

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DES PÂTES ET PAPIERS

PAR  
AICHA DEBBOUB

HYDROLYSE ENZYMATIQUE DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE :  
NOUVELLE TECHNOLOGIE DE PRÉTRAITEMENT ET DE CATALYSE

AOÛT 2012

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## **Avant-propos**

Ce travail consiste à développer un prétraitement afin d'obtenir une hydrolyse enzymatique de la pâte Kraft de feuillus plus rapide et plus efficace. Le prétraitement, consistera à une activation par micro-ondes en présence d'un catalyseur solide acide et d'un acide dilué dans le but de faciliter l'accès à la structure fibrillaire de la cellulose. Ce prétraitement permettra d'améliorer le rendement en sucres réducteurs et la vitesse de l'hydrolyse enzymatique. Le catalyseur solide consiste en un charbon activé auquel des ions hydrogénosulfates ont été greffés. De l'acide sulfurique dilué a également été ajouté au milieu réactionnel.

Pour faire suite au prétraitement, une hydrolyse enzymatique a été effectuée à l'aide de l'enzyme Accelerasse de Genencor dans des conditions opératoires bien déterminées. Des techniques de design d'expérience et d'analyse statistique seront utilisées. Le logiciel de statistique et d'analyse de données expérimentales (JMP) a été utilisé pour le traitement statistique des données.

## Remerciements

Je tiens à remercier du fond de mon cœur Monsieur Daniel Montplaisir, qui, en tant que directeur de recherche, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de mon travail, et aussi la chaire de recherche Kruger qui a financé ce projet.

Mes remerciements s'adressent également à Madame Amel Hadj Bouazza : agent de recherche au centre de recherche sur les matériaux lignocellulosiques, pour l'aide et le suivi.

J'exprime ma gratitude au personnel du centre de recherche et à tous les techniciens qui ont accepté de répondre à mes questions

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers mon père qui m'a soutenue tout le long de mon parcours universitaire et toujours encouragée.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

## Résumé

La fibre lignocellulosique est un matériel complexe constitué de cellulose, hémicellulose et lignine. Sa structure fibreuse a pour conséquence que ses liens glucosidiques sont peu accessibles. L'hydrolyse est donc difficile et requiert des conditions sévères et coûteuses environnementalement parlant. C'est pour cela que nous avons développé un procédé d'hydrolyse verte. Ce procédé consiste en une hydrolyse enzymatique de la fibre cellulosique de la pâte de kraft de feuillus, précédé d'un prétraitement aux micro-ondes en présence de catalyseur solide ou d'acide dilué. L'efficacité de l'hydrolyse enzymatique a été mesurée à l'aide du test au PAHBAH (parahydroxybenzoïque hydrazine) un essai colorimétrique de quantification des sucres réducteurs. Les différents paramètres du prétraitement ont été déterminés à l'aide de trois designs d'expériences statistiques.

Au premier design, une diminution de la concentration en sucres réducteurs obtenus après hydrolyse a été observée en présence d'une quantité importante de catalyseur solide. Cette forte acidité a pu empêcher le travail des enzymes. Au deuxième design, une plus basse quantité de catalyseur solide a été utilisée. Il a été observé qu'une plus basse température permet d'obtenir une concentration en sucres réducteurs maximale de 81,43mM avec des conditions de température, quantité de charbon, quantité d'acide sulfurique et temps qui sont respectivement de 140°C, 0,25 g, 16,5 g et 22,5 min, ces conditions nous ont permis de maximiser la concentration en sucres. Des conditions de températures plus élevées affectent le rendement en sucres réducteurs. Ces conditions plus sévères peuvent entraîner la dégradation des sucres réducteurs.

Un troisième design a permis d'étudier l'hydrolyse avec et sans catalyseur solide ou activation aux micro-ondes. Avec les conditions utilisées, nous avons pu obtenir une concentration optimale de 108,43 mM en utilisant des conditions plus douces qu'au design précédent. L'étude de la cinétique de réaction a néanmoins permis de conclure que le catalyseur solide et le traitement aux micro-ondes accélèrent la cinétique initiale de la réaction.

**Mots Clés**

Hydrolyse, traitement aux micro-ondes, charbon activé, cellulose, cellulase, sucres, pâte Kraft, sucres réducteurs, PAHBAH, enzyme, concentration en sucres, design d'expérience.

## Table des Matières

Avant-propos.....	ii
Remerciements.....	iii
Résumé.....	iv
Mots Clés.....	v
Table des Matières .....	vi
Liste des Figures .....	ix
Liste des Tableaux.....	x
Liste des Abréviations.....	xi
Chapitre 1 - Introduction.....	1
1.1. Composition de la biomasse (lignocellulosique).....	3
1.1.1. Cellulose .....	3
1.1.2. Hémicelluloses.....	5
1.1.3. Lignine.....	6
1.1.4. Produits dérivés de cellulose .....	6
1.1.5. Un modèle simplifié de biomasse : la pâte Kraft.....	6
1.2. Techniques de prétraitement de la biomasse lignocellulosique et l'hydrolyse de la cellulose en glucose.....	6
1.2.1. Prétraitement par micro-ondes.....	8
1.2.2. Prétraitement par vapocraquage .....	9
1.2.3. Prétraitement à l'acide dilué .....	10
1.2.4. Prétraitement en milieu alcalin .....	11
1.2.5. Prétraitement à l'aide du Procédé AFEX (Ammonia Fiber Explosion).....	11
1.3. Méthode d'hydrolyse de la cellulose .....	12
1.3.1. Hydrolyse par l'acide dilué.....	12
1.3.2. Hydrolyse alcaline .....	12

1.3.3.	Hydrolyse par catalyseur solide.....	14
1.3.4.	Hydrolyse enzymatique .....	18
1.3.5.	Récapitulation des méthodes d'hydrolyse .....	20
1.4.	Procédé d'hydrolyse proposé.....	22
Chapitre 2 -	Matériels et méthodes .....	23
2.1.	Pâte Kraft .....	23
2.2.	Catalyseur .....	23
2.3.	Acide sulfurique.....	25
2.4.	Appareil à micro-ondes.....	26
2.5.	Enzyme .....	27
2.6.	Design d'expérience .....	27
2.7.	Méthodes.....	29
2.7.1.	Analyse de la composition de surface du catalyseur par spectroscopie photoélectronique avec rayon X (XPS) .....	29
2.7.2.	Quantification des sites acides du charbon activé par titrage .....	30
2.7.3.	Évaluation du rendement de l'hydrolyse par dosage colorimétrique des sucres réducteurs au PAHBAH .....	30
2.7.4.	Préparation du catalyseur .....	31
2.7.5.	Prétraitement de la pâte Kraft .....	31
2.7.6.	Hydrolyse enzymatique .....	32
Chapitre 3 -	Résultats.....	34
3.1	Caractérisation de la surface du catalyseur.....	34
3.2	DE-01 Optimisation des paramètres du prétraitement.....	36
3.2.1	Rendement du prétraitement du DE-01 .....	36
3.2.2	Analyse de l'influence des paramètres .....	37
3.2.3	Effet du charbon.....	41
3.2.4	Effet de l'acide sulfurique .....	43
3.2.5	Effet du prétraitement sur la cinétique de réaction .....	43
3.3	DE-02 Diminution de la quantité de charbon et optimisation des variables .....	44
3.3.1	Rendement de prétraitement .....	44
3.3.2	Analyse de l'influence des paramètres .....	45



3.4	DE-03 Paramètres optimisés.....	50
3.4.1	Rendements des prétraitements de DE-03 .....	50
3.4.2	Analyse de l'influence des paramètres sur la concentration en sucres réducteurs.....	50
Chapitre 4 -	Conclusions .....	55
Bibliographie.....		58
Annexe .....		62

## Liste des Figures

Figure 1.1	Composition chimique de la fibre lignocellulosique .....	4
Figure 1.2	Structure chimique de la cellulose .....	4
Figure 1.3	Structure chimique d'une hémicellulose .....	5
Figure 1.4	Réaction d'hydrolyse de la cellulose en glucose .....	7
Figure 1.5	Réaction de Peeling, dégradation de type bout de chaîne.....	13
Figure 1.6	Transformation des groupements réducteurs en groupements acides.....	14
Figure 1.7	L'hydrolyse et la formation de l'acide benzylique .....	14
Figure 1.8	Dissociation des protons du catalyseur en présence d'eau .....	17
Figure 1.9	Le rendement en sucres obtenu après hydrolyse par différents catalyseurs [28] .....	17
Figure 1.10	Mécanisme réactionnel des enzymes pour l'hydrolyse de la cellulose.....	19
Figure 2.1	Charbon actif utilisé comme catalyseur.....	25
Figure 2.2	Structure moléculaire de l'acide sulfurique .....	25
Figure 2.3	Multiwave 3000 accompagné des capsules utilisées pour le prétraitement .....	26
Figure 3.1	Composition chimique de la surface du charbon non sulfoné .....	34
Figure 3.2	Composition chimique de la surface du charbon sulfoné .....	35
Figure 3.3	Modèle de prédiction du rendement DE-01 .....	38
Figure 3.4	Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-01.....	39
Figure 3.5	Profil d'interaction des paramètres à optimiser DE-01 .....	41
Figure 3.6	Concentration en sucre en fonction du temps pour les conditions du tableau 2.5 .....	42
Figure 3.7	Concentration en sucre en fonction du temps de la digestion.....	44
Figure 3.8	Modèle de prédiction de rendement DE-02 .....	46
Figure 3.9	Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-02.....	48
Figure 3.10	Profil d'interaction des paramètres à optimiser DE-02 .....	49
Figure 3.11	Modèle de prédiction de rendement DE-03 .....	51
Figure 3.12	Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-03.....	52
Figure 3.13	Résultats d'hydrolyse des échantillons de pâte Kraft en présence de charbon (0 à 0,5g).....	53

## Liste des Tableaux

Tableau 1.1	Rendement en sucre après l'hydrolyse enzymatique de pailles de riz précédée par différents traitements aux micro-ondes. ....	9
Tableau 1.2	Caractéristiques des catalyseurs solides .....	16
Tableau 1.3	Différentes méthodes d'hydrolyse de la cellulose [7] .....	21
Tableau 2.1	Composition chimique de la pâte Kraft utilisée dans le procédé.....	23
Tableau 2.2	Propriétés du charbon RGC50 de Mead Westvaco [37].....	24
Tableau 2.3	Design expérimental DE-01 choisi pour déterminer les conditions optimales du procédé.....	28
Tableau 2.4	Résultats de titrage des sites acides de Bronsted sur de la cellulose .....	30
Tableau 2.5	Échantillons sans traitement aux micro-ondes.....	33
Tableau 3.1	Résultats de titrage des sites acides de Bronsted des charbons .....	36
Tableau 3.2	Plan d'expérimentation et résultats d'hydrolyse DE-01 .....	37
Tableau 3.3	DE-02 Plan d'expérimentation sur mesure et résultats d'hydrolyse .....	45
Tableau 3.4	DE-03 Plan d'expérimentation sur mesure et résultats d'hydrolyse .....	50

## Liste des Abréviations

PAHBAH	Acide Para-hydroxy benzoïque hydrazine
CMC	CarboxyMéthylCellulose
PNPG	Para-nitrophényl-BD-glucopyranpside

## Chapitre 1 - Introduction

L'industrie des pâtes et papiers est l'un des piliers de l'économie québécoise. En 2009, elle était constituée de 15 entreprises et 43 usines, dont 15 usines fabriquant du papier et du carton d'emballage. La capacité de production annuelle totalise 7,76 millions de tonnes métriques, dont 1,8 million de tonnes pour les papiers et cartons d'emballage. Le Québec vient en tête des provinces canadiennes au niveau de la production de pâtes et papiers ainsi que des cartons. Les quatre principales catégories de produits manufacturés au Québec sont le papier journal, les cartons, les papiers non couchés à base de pâte mécanique et les pâtes commerciales. Elles s'approprient, respectivement, 40 %, 17 %, 15 % et 14 % de la capacité totale de production des pâtes et papiers de la province [1].

Actuellement, l'industrie nord-américaine des pâtes et papiers est dans l'impasse économique, souffrant notamment de la pression exercée par différents facteurs de marché affaiblissant sa situation financière et sa position compétitive. Parmi ces facteurs nous avons :

- l'envolée du dollar canadien;
- l'augmentation des coûts de la fibre;
- le tarissement inévitable des ressources énergétiques;
- la fluctuation des prix que connaît le marché des énergies fossiles non renouvelables.

De plus, les usines canadiennes sont affectées durement par la pression concurrentielle des industries d'Amérique latine et d'Asie qui sont plus efficaces et productives [2]. Tous ces facteurs poussent les décideurs de l'industrie nord-américaine à repenser à leur façon de faire. Parmi les solutions qui pourraient redonner à l'industrie papetière un nouvel élan, l'utilisation de la biomasse forestière s'avère très intéressante.

La transformation de cette biomasse doit se faire par des procédés chimiques verts. La chimie verte, aussi appelée la chimie renouvelable, est une philosophie de la chimie et

du génie chimique qui encourage la conception des produits et des processus chimiques qui diminuent l'utilisation et la production de substances dangereuses. La chimie verte est une vision globale des procédés chimiques. Elle implique que le bilan global du procédé (atomique, énergétique, déchets, toxicité...) de ce dernier soit plus faible ou même nul comparativement à celui des voies traditionnelles. Comparé à la chimie classique, la chimie verte est plus propre et environnementale, mais le passage au stade industriel suppose une compétitivité qui doit être maintenue au niveau des marchés en perpétuel changement [3].

La biomasse produit une énergie renouvelable, par conséquent, elle s'insère dans la vision du développement durable. La biomasse contribue pour 40 % à 50 % des ressources principales et globales d'énergies dans plusieurs pays développés [4]. Selon l'analyse effectuée par la conférence des Nations Unies sur le développement et l'environnement, la biomasse constituera la moitié des sources d'énergie principale de consommation du monde d'ici l'année 2050 [5].

Parmi les constituants de la biomasse forestière, il y a la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Ces molécules peuvent être des précurseurs de carburant et de produits chimiques de base, mais leurs productions sont l'un des plus importants défis auxquels les industries font face aujourd'hui. Beaucoup de recherche a été faite au cours de ces dernières années pour la valorisation de la biomasse en utilisant différents procédés. La délignification permet de libérer la cellulose et les hémicelluloses des fibres de bois. La dépolymérisation de ces molécules permet ensuite de produire les sucres libres qui devront ensuite être fermentés pour produire le bioéthanol ou utilisés dans la synthèse de divers produits. La dépolymérisation de la cellulose se fait par hydrolyse à l'aide de différents types de catalyseurs (enzymatique, acide, zéolite) [6].

L'industrie papetière regroupe plusieurs entreprises de fabrication et produit différents types de pâtes et de papiers destinés à divers marchés. Dans le but de relancer l'industrie du papier, les chefs d'entreprises, à partir du produit de base que représente la « pâte à papier », veulent instaurer d'autres créneaux tels que l'énergie verte et la synthèse de bioproduits pour en tirer un revenu supplémentaire. Il est important de développer des procédés respectueux de l'environnement et du développement durable. Dans le cadre de

ce projet de recherche, nous proposons de mettre au point une technologie novatrice de prétraitement de la pâte Kraft afin d'accélérer et d'augmenter le rendement de l'hydrolyse enzymatique. Le prétraitement, consistera à une activation par micro-ondes en présence d'un catalyseur solide acide et d'un acide dilué dans le but de faciliter l'accès à la structure fibrillaire de la cellulose. Le catalyseur solide consiste en un charbon activé auquel des ions hydrogénosulfates ont été greffés. Il est réutilisable. L'acide dilué est de l'acide sulfurique. L'acide doit être suffisamment dilué pour ne pas dégrader les sucres produits. Il s'agit d'un procédé vert respectant l'environnement et le développement durable. Nous discuterons, dans les prochaines sections, de la composition de la biomasse, des méthodes de prétraitements trouvées dans la littérature et finalement du procédé d'hydrolyse proposé dans cette recherche.

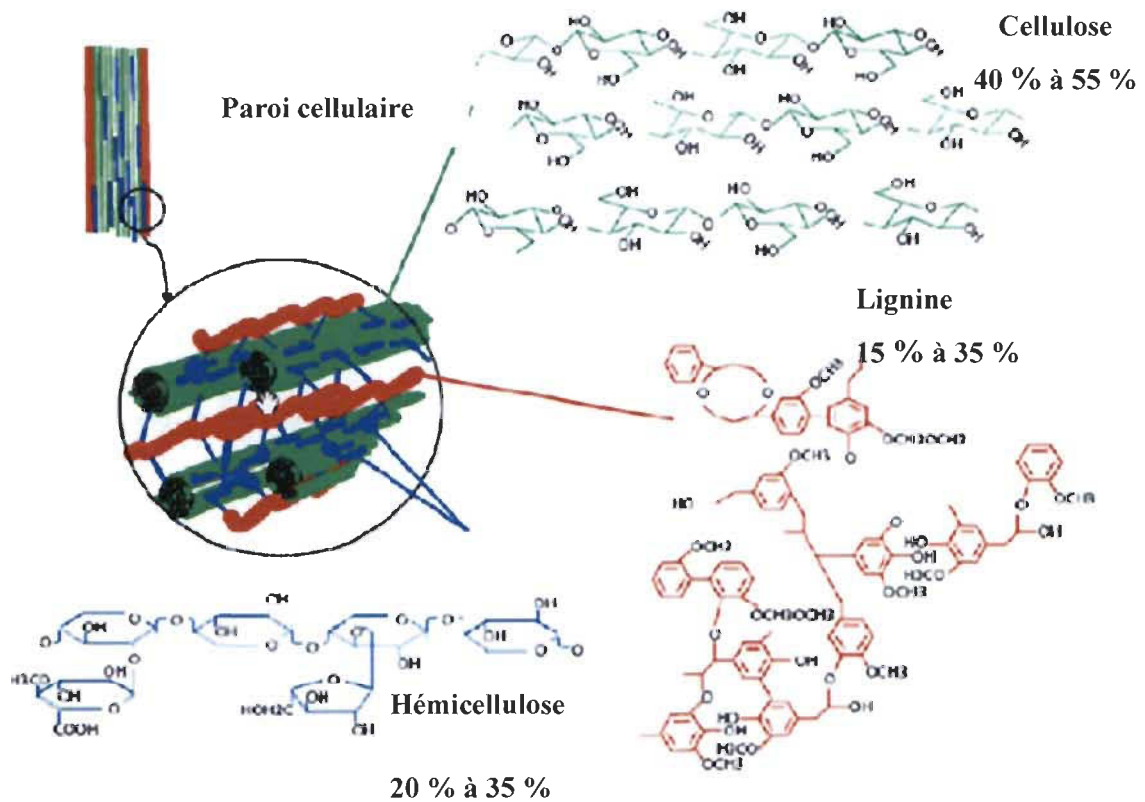
### 1.1. Composition de la biomasse (lignocellulosique)

La biomasse peut être classée en quatre importantes catégories telles que : agricole, forestière, municipale et autres. Durant la production de la biomasse forestière, la réaction de photosynthèse conduit à la formation des produits clés de la biomasse, dont la lignine, la cellulose et les hémicelluloses. Ces deux derniers sont composés de différents sucres fermentables. C'est pourquoi les fibres de bois peuvent être utilisées pour la production d'énergie renouvelable et de produits chimiques. Par contre, la valorisation de cette biomasse requiert que les sucres réducteurs soient extraits de ses différentes composantes [7]. La fibre lignocellulosique est constituée approximativement de 40 à 55 % cellulose, 20 à 35 % d'hémicellulose, de 15 à 35 % de lignine et de quelques autres substances incluant les composés extractibles organiques et les substances minérales, voir la figure 1.1 [7].

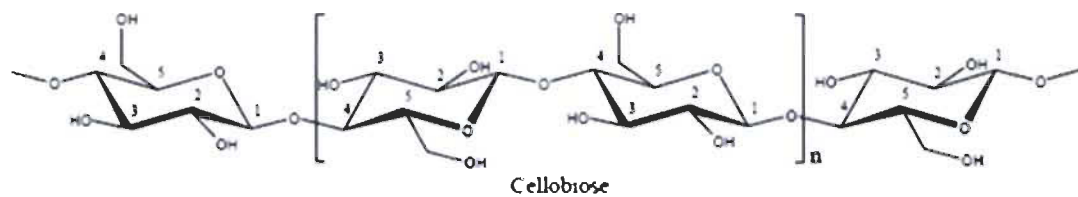
#### 1.1.1. Cellulose

La cellulose est la molécule organique la plus abondante sur terre. Elle constitue la paroi des cellules végétales, assurant la protection et le soutien des organismes végétaux. La cellulose est un homopolysaccharide linéaire composé d'un enchaînement d'unités D-glucopyranose ayant des groupements hydroxyles (OH) libres sur les positions 2, 3 et 6 et liées entre elles par des liaisons glycosidiques  $\beta$ -(1→4) [8]. Définie comme un

polymère de glucoses, elle a un poids moléculaire moyen entre 300 000 et 500 000 g/mol [9,10]]. Le degré de polymérisation (DP) est entre 7000 et 10 000. Le masse molaire est de 150 000 g/mol pour le coton [9]. La structure est montrée à la figure 1.2.



**Figure 1.1** Composition chimique de la fibre lignocellulosique



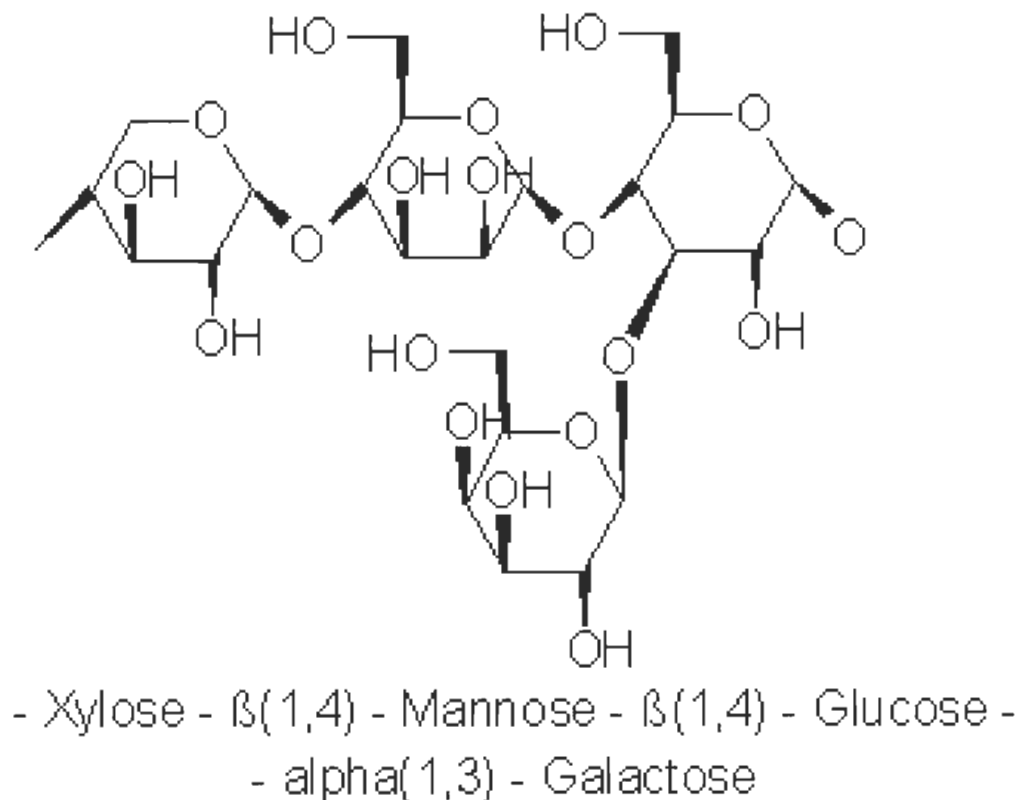
**Figure 1.2** Structure chimique de la cellulose



### 1.1.2. Hémicelluloses

En comparaison avec la cellulose, les hémicelluloses sont des polymères qui se composent de différents monosaccharides y compris des sucres à 5 carbones comme le xylose et l'arabinose, et des sucres à 6 carbones comme le galactose, le glucose et le mannose ainsi que de l'acide 4-O-méthyle gluconique (Figure 1.3). Les hémicelluloses sont liées avec la cellulose dans la paroi cellulaire. Le constituant le plus abondant des hémicelluloses est le xylane qui est composé d'unités monomères de xylose liées aux positions 1,4. Les hémicelluloses sont habituellement ramifiées avec un degré de polymérisation de 100 à 200 unités.

En raison de leur structure et leur nature ramifiée, les hémicelluloses sont plus faciles à hydrolyser que la cellulose [7].



**Figure 1.3** Structure chimique d'une hémicellulose

### 1.1.3. Lignine

La lignine est un composé beaucoup plus complexe que la cellulose et les hémicelluloses. Elle est composée principalement de polymères aromatiques de phénylpropane. La lignine est une structure amorphe réticulée de résine. Elle sert d'adhérent entre les fibres de bois et est un agent qui donne de la résistance aux fibres. Elle est souvent associée avec la cellulose et les hémicelluloses qui constituent les matériaux composés lignocellulosiques. Des liaisons éther prédominent entre les unités de la lignine, contrairement aux fonctions acétals de la cellulose et des hémicelluloses. Des liaisons covalentes existent aussi entre la lignine et les polysaccharides qui améliorent fortement la force des liens entre la cellulose et la lignine [7].

### 1.1.4. Produits dérivés de cellulose

Plusieurs produits peuvent être extraits des sucres issus de l'hydrolyse de la cellulose. Où l'intérêt pour le développement d'un procédé d'hydrolyse vert et efficace. Parmi ces produits, on peut citer les alcools et les acides organiques. Par un traitement microbiologique des sucres obtenus par hydrolyse on peut produire le sorbitol et le mannitol et par hydrogénation on peut produire de l'acide levulinique. [11,12].

### 1.1.5. Un modèle simplifié de biomasse : la pâte Kraft

La pâte chimique est principalement obtenue par le procédé au sulfate (alcalin), on parle alors de pâte kraft. Le traitement chimique de la matière première permet de fabriquer une pâte de haute qualité. Pour ce faire, il faut éliminer au maximum les composants indésirables du bois : la lignine, les gommes, les résines pour ne conserver que la fibre de cellulose. [13].

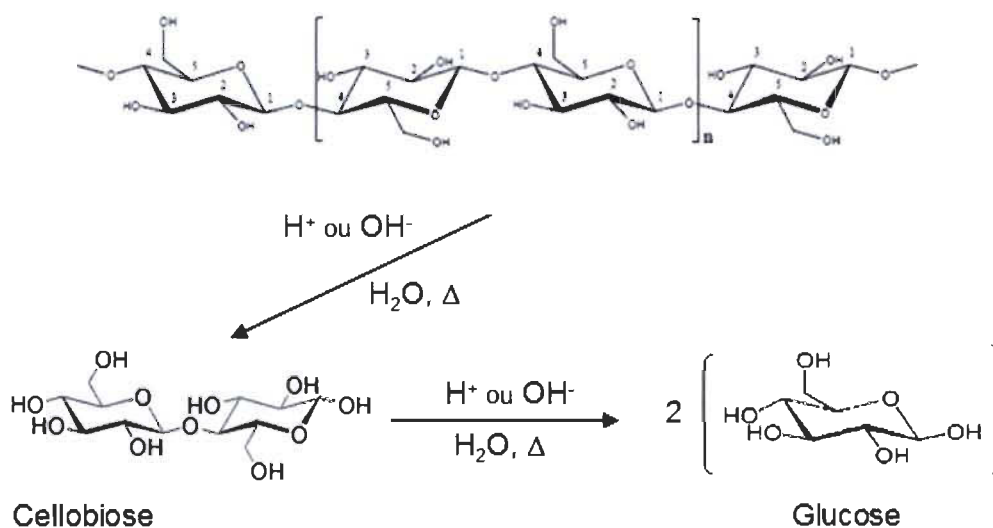
## 1.2. Techniques de prétraitement de la biomasse lignocellulosique et l'hydrolyse de la cellulose en glucose

La cellulose est convertie en sucres réducteurs par l'hydrolyse des liaisons  $\beta$ -1,4 glycosidiques. Plusieurs travaux ont été consacrés au développement d'un procédé approprié d'hydrolyse, incluant une catalyse avec l'utilisation d'un acide minéral

[14,15], l'hydrolyse enzymatique [16], l'utilisation d'eau dans les conditions supercritiques [17] et l'utilisation d'un catalyseur acide solide [18]. La figure 1.4 décrit la réaction chimique d'hydrolyse.

De par sa forte proportion en lignine, la biomasse lignocellulosique (ou forestière) présente une plus grande difficulté quant à son traitement dans le but d'en libérer les sucres. Le fractionnement des matériaux lignocellulosiques nécessite ainsi un prétraitement afin de rendre la cellulose accessible à l'hydrolyse. Cet objectif peut être atteint de plusieurs manières, soit en abaissant la teneur en lignine et hémicelluloses du substrat solide à traiter, en augmentant la porosité de la matrice, en diminuant la cristallinité de la cellulose ou en augmentant sa surface spécifique pour qu'elle soit plus accessible.

Les principales contraintes liées aux différents types de prétraitement sont la perte ou la dégradation des sucres et la formation de produits inhibiteurs non souhaités, lesquelles doivent être évitées [19].



**Figure 1.4** Réaction d'hydrolyse de la cellulose en glucose

Les méthodes décrites dans la littérature pour l'hydrolyse de la cellulose en glucose sont : l'hydrolyse enzymatique, l'hydrolyse par utilisation de zéolite, l'hydrolyse par

l'acide dilué, l'hydrolyse alcaline et l'hydrolyse par catalyseur acide solide. Les techniques de prétraitement et d'hydrolyse sont présentées ci-après.

### 1.2.1. **Prétraitement par micro-ondes**

De nombreuses techniques de prétraitement ont été étudiées dans la littérature. Parmi celles-ci on retrouve les prétraitements aux micro-ondes, par vapocraquage, à l'acide dilué, en milieu alcalin par le procédé AFEX (Ammonia Fiber Explosion) [20].

Les micro-ondes sont de plus en plus utilisées en synthèse chimique. En effet au cours de ces dernières années, l'utilisation des micro-ondes a largement fait ses preuves et elle constitue une excellente alternative aux différents procédés chimiques utilisés au laboratoire et à l'échelle industrielle. Elles permettent d'obtenir une réaction plus rapide en diminuant ainsi l'énergie consommée. Dans une réaction chimique, les micro-ondes vont activer directement les ions ainsi que la plupart des molécules qui possèdent un moment dipolaire. Étant donné que le transfert d'énergie entre les micro-ondes et les molécules est extrêmement rapide (de l'ordre de la nanoseconde), soit beaucoup plus rapide avec un chauffage micro-ondes qu'avec un chauffage traditionnel (bain d'huile, plaque chauffante, etc.) [21]. Les molécules des réactifs et du solvant sont incapables de relaxer complètement (de l'ordre du dixième de microseconde) et d'atteindre l'équilibre thermique. Cela crée ainsi un état hors équilibre qui se traduit par une température instantanée ( $T_i$ ) des molécules. Cette température n'est pas directement mesurable, mais est bien plus grande que celle du réactif ou du solvant [21].

Ce phénomène et ces radiations thermiques et ioniques peuvent changer l'ultra structure de la cellulose, dégrader la lignine et les hémicelluloses et ainsi accélérer diverses réactions qui leur sont reliées [22]. Les micro-ondes, en général, sont donc utilisées comme traitement ou prétraitement lors de l'hydrolyse de la cellulose. Elles peuvent être combinées avec d'autres catalyseurs, tels que les acides concentrés ou dilués ou suivis d'une hydrolyse enzymatique.

Les études de prétraitement par micro-ondes avant hydrolyse enzymatique publiées dans la littérature utilisent différentes conditions de traitement. Les températures de

prétraitement varie entre 170°C et 230°C pour des intervalles de temps qui ne dépassent pas 3 minutes tel qu'obtenu par Oshima et al [23] (voir tableau 1.1), lors de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose retrouvée dans les pailles de riz. Le traitement aux micro-ondes améliore et augmente le rendement en sucre. Toutefois, lorsque le prétraitement aux micro-ondes s'intensifie par une augmentation de température et de temps, on remarque que le rendement en sucres commence à diminuer, il passe de 68 mM à 42 mM ce qui pourrait expliquer la carbonisation de la cellulose à haute température. Le prétraitement par micro-ondes est un procédé vert, car il permet d'économiser de l'énergie et de réaliser les réactions dans de courts délais.

**Tableau 1.1** Rendement en sucre après l'hydrolyse enzymatique de pailles de riz précédée par différents traitements aux micro-ondes.

Conditions	Température de chauffage aux micro-ondes (°C)	Durée de réaction aux micro-ondes (min)	Température de digestion enzymatique (°C)	Durée de la digestion enzymatique (heures)	Concentration en sucres réducteurs (mM)
Hydrolyse enzymatique avec Prétraitement au micro-onde	170	5	40	30	35
	200	5	40	30	68
	230	5	40	30	42
Hydrolyse enzymatique sans prétraitement au micro-onde			40	30	22

### 1.2.2. Prétraitement par vapocraquage

Le vapocraquage est un procédé thermomécanochimique. Le procédé est composé de deux phases distinctes : le vapocraquage comme tel et la décompression explosive. Les actions combinées de ces deux phases vont, selon les conditions, modifier les propriétés physiques du matériau (surface spécifique, rétention d'eau, coloration, taux de cristallinité de la fraction cellulosique...), améliorer l'hydrolyse des fractions hémicellulosiques (formation de mono et oligosaccharides) et induire des modifications

dans la structure des lignines, ce qui facilite leur extraction. Tous ces phénomènes permettent l'ouverture de la structure du matériau et améliorent significativement les propriétés d'hydrolyse de la fraction cellulosique en vue de l'obtention de sucres fermentescibles, valorisables dans les unités de production de biocarburant de deuxième génération ou de molécules à haute valeur ajoutée [20].

Ce traitement, aussi appelé autohydrolyse, consiste à chauffer rapidement le substrat (entre 160 à 260°C) par injection de vapeur saturée à haute pression (entre 10 ou 50 bars), à maintenir la température désirée pendant un temps variant de quelques secondes à quelques minutes, et à revenir à la pression atmosphérique par une détente brutale. Cette technique conduit à une hydrolyse partielle des hémicelluloses ainsi qu'à une transformation de la lignine et une destruction importante de la structure de la matrice lignocellulosique. Par contre, elle ne dégrade pas l'indice de cristallinité de la cellulose. [19]. Comparativement au prétraitement aux micro-ondes, la durée de réaction est moins longue et la production de produits inhibiteurs est moins importante. Le procédé est facile à appliquer en industrie.

Cependant avec ce procédé, la solubilisation des hémicelluloses conduit à l'obtention d'un mélange de monosaccharides et d'oligosaccharides de très faible degré de polymérisation. L'hydrolyse est donc incomplète. Par ailleurs, le rendement d'hydrolyse enzymatique de la cellulose obtenu après explosion à la vapeur reste généralement en dessous de 50 %. Enfin, cette technique conduit à la formation de produits inhibiteurs et est peu efficace dans le cas des bois tendres [19].

### 1.2.3. Prétraitement à l'acide dilué

Ce type de prétraitement utilise de l'acide sulfurique ou chlorhydrique dilué en proportion de 0,5 à 3 % par rapport à la matière sèche de substrat. Deux méthodes sont utilisées. La première méthode implique le maintien d'une température supérieure à 60 °C en continu, ce qui convient pour les faibles charges en matières sèches (5 à 10 %). La seconde méthode est, quant à elle, réalisée à une température légèrement inférieure à 150 °C et est utilisable pour des concentrations en matières sèches comprises entre 10 et 40 %. Plus la température est élevée, plus la perte en matières sèches est importante.

Cette technique permet une hydrolyse des hémicelluloses en monomères et augmente notablement la digestibilité de la cellulose. Dans certains cas, les rendements d'hydrolyse enzymatique sont supérieurs à 90 % [19].

#### 1.2.4. **Prétraitement en milieu alcalin**

Les traitements en milieu alcalin conduisent à une solubilisation quasi totale de la lignine et d'une partie des hémicelluloses et à un gonflement des fibres de cellulose ainsi rendues beaucoup plus accessibles aux enzymes. Le DP et l'indice de cristallinité de la cellulose sont diminués. Les conditions de prétraitement nécessitent habituellement de 8 à 12 % de NaOH (par rapport à la matière sèche), une température allant de 80 à 120 °C, et une durée de 30 à 60 minutes. Cette technique est beaucoup plus efficace sur les résidus agricoles que sur les bois tendres très ligneux. Elle s'accompagne par contre d'une perte importante de la matière sèche lignocellulosique (30 à 35 %) et nécessite un lavage et une neutralisation du résidu solide ainsi qu'un recyclage de la soude. Elle est lente comparée aux micro-ondes. Elle est coûteuse et n'est pas une méthode verte [19].

#### 1.2.5. **Prétraitement à l'aide du Procédé AFEX (Ammonia Fiber Explosion)**

Dans le procédé AFEX, la matière lignocellulosique est mise en contact avec de l'ammoniac liquide à haute température et sous pression. La pression est ensuite brutalement réduite afin d'exploser le substrat et d'évaporer l'ammoniac. C'est une variante de l'explosion à la vapeur, mais la température y est plus faible (50 à 90 °C) et le temps de séjour plus long (typiquement 30 minutes). Il n'y a pas de formation de produits inhibiteurs. Les hémicelluloses sont peu solubilisées. Toutefois, les concentrations élevées d'ammoniac (1-2 kg/kg MS) requièrent une récupération et un recyclage poussé de celui-ci pour que le procédé soit économiquement viable [19].



### 1.3. Méthode d'hydrolyse de la cellulose

#### 1.3.1. Hydrolyse par l'acide dilué

L'hydrolyse de la cellulose par l'acide dilué nous permet d'éviter les problèmes causés par l'utilisation d'acide concentré tels que la forte demande en énergie, la corrosion des matériaux, l'obligation de traiter l'eau résiduaire, et la récupération de l'acide concentré. Ces opérations sont coûteuses. L'utilisation d'acide dilué permet d'éviter tous les inconvénients cités ci-dessus [24].

L'hydrolyse de la cellulose par l'acide dilué à 1 % [7] est une réaction hétérogène entre la cellulose solide et l'acide dilué en phase aqueuse. En général [7], ce type d'hydrolyse s'effectue à haute température (215 °C), ce qui peut affecter la structure de la cellulose en la carbonisant et provoquer une dégradation des sucres produits. Ce niveau de température a donc un effet négatif sur le rendement en sucre [7].

De plus, l'utilisation de l'acide dilué est peu économique, en effet, ce type de catalyseur doit être neutralisé ou bien séparé une fois l'opération d'hydrolyse terminée, puis recyclé et traité pour être réutilisé. Ces opérations sont coûteuses pour l'industrie [25].

#### 1.3.2. Hydrolyse alcaline

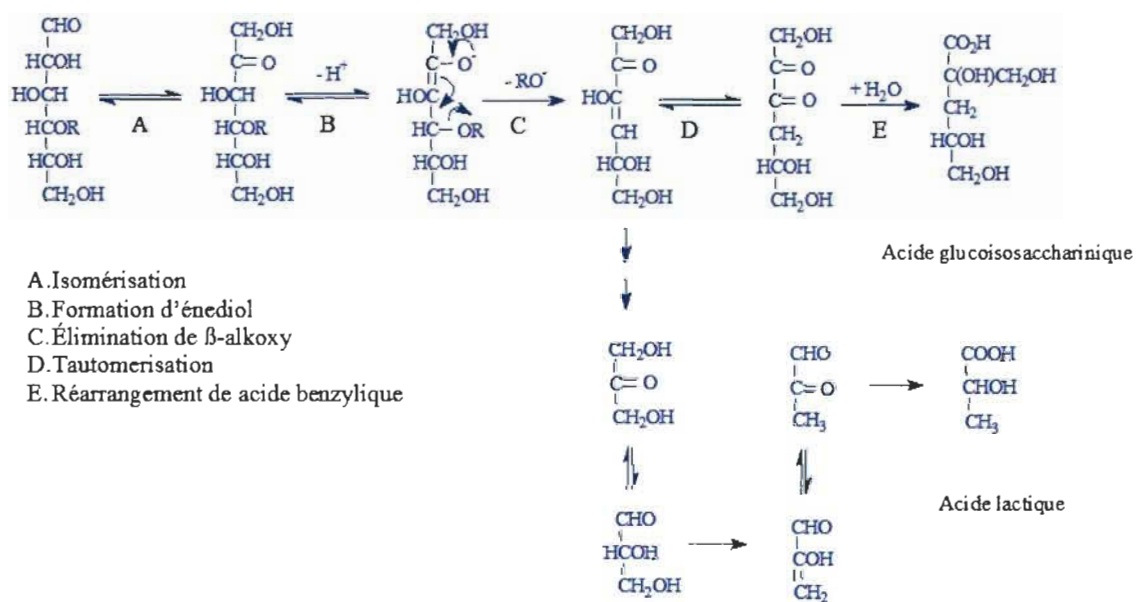
Le procédé d'hydrolyse alcaline consiste à l'attaque des ions  $\text{OH}^-$  sur des atomes de carbone anomérique ce qui provoque la rupture des liaisons éthers. Cependant, il est difficile d'obtenir un rendement supérieur à 30 % en sucre par hydrolyse alcaline. Le glucose, le fructose, ou le cellobiose sont sévèrement décomposés par l'alcali même à des températures inférieures à 100 °C [7]. Des acides organiques sont formés durant la réaction avec l'alcali [7]. Les figures 1.5, 1.6 et 1.7 représentent les réactions possibles d'hydrolyse alcaline qui suivent trois différents mécanismes [26,27].

Le premier mécanisme est la réaction de Peeling qui dégrade le bout de la chaîne et amène ainsi l'élimination progressive des groupements terminaux réducteurs. Les liens  $\beta\text{-O-4}$  se brisent un à la fois (voir figure 1.5). Le deuxième mécanisme est la

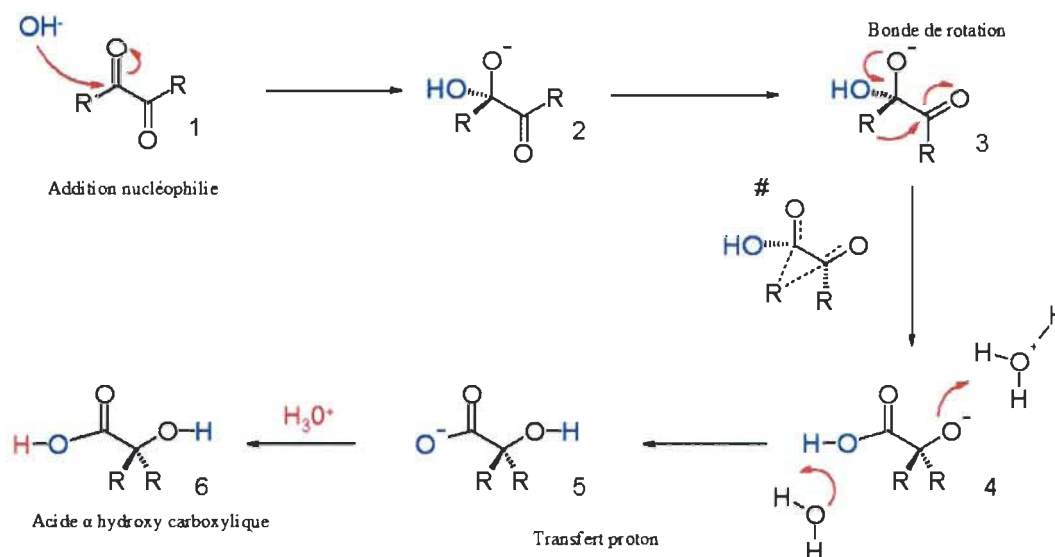


transformation des groupements réducteurs en groupement acide qui résiste aux attaques alcalines (figure 1.6), et enfin la formation de l'acide benzylique (figure 1.7).

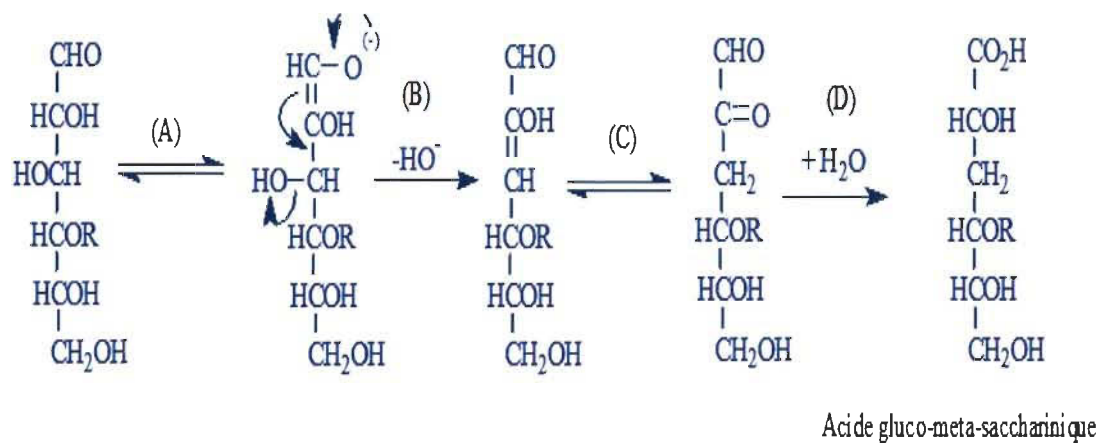
Malgré son faible rendement, l'hydrolyse alcaline provoque le gonflement de la fibre et donc une augmentation de la surface interne qui devient plus accessible, la diminution de la cristallinité, un relâchement des liens structurels entre la lignine et les hydrates de carbone. Ce qui fait qu'elle peut très bien être utilisée comme prétraitement de la biomasse lignocellulosique. En effet, ces dommages provoqués à la structure de la biomasse ont pour effet de faciliter l'accessibilité à la structure aux autres types d'hydrolyse.



**Figure 1.5** Réaction de Peeling, dégradation de type bout de chaîne



**Figure 1.6** Transformation des groupements réducteurs en groupements acides



- A. formation de 1, 2 ènediol
- B. élimination de b-hydroxy
- C. Tautomerisation
- D. réarrangement acide Benzylique

**Figure 1.7** L'hydrolyse et la formation de l'acide benzylique

### 1.3.3. Hydrolyse par catalyseur solide

Les pressions environnementales ont amené le développement des catalyseurs solides recyclables réutilisables pour remplacer l'acide liquide non recyclable [9,11]. Parmi les

catalyseurs solides, on retrouve les zéolites ainsi que les catalyseurs solides acides [25]. Pour fournir une activité catalytique comparable à celle de l'acide sulfurique à un matériau solide, ce dernier doit être stable et contenir une concentration suffisante de sites acides de Brönsted. L'efficacité de la conversion de la cellulose en glucose, en utilisant un catalyseur solide acide, requiert par conséquent une forte interaction entre l'acide du solide et le lien  $\beta$ -1,4 glycanes de la cellulose. Onda et Al ont étudié différents catalyseurs solides pour l'hydrolyse de la cellulose dont des zéolites et du charbon activé, voir tableau 1.2 [28].

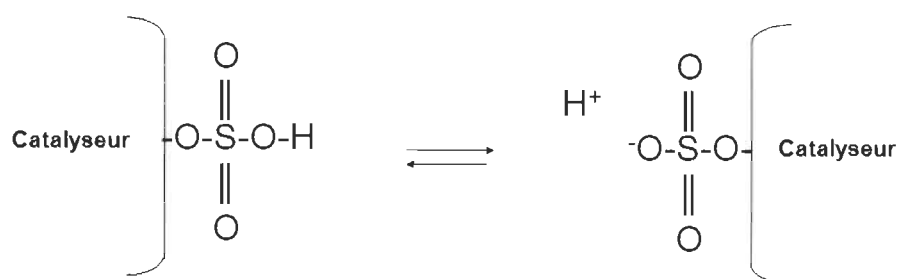
Les acides solides inorganiques tels que la zéolite et l'acide niobique (avec groupement OH) ont une faible densité de groupement acide ce qui les rend peu performants. Ils ne peuvent donc pas catalyser les réactions d'hydrolyse acide avec une performance adéquate [29,30]. Dans l'étude d'Onda le charbon actif sulfoné s'est démarqué en démontrant une grande stabilité hydrothermale et une surface spécifique élevée  $1243\text{m}^2$ . Tous les catalyseurs solides acides de Bronsted ont démontré une efficacité d'hydrolyse comparable à l'acide sulfurique. Le charbon activé sulfoné est constitué d'un support flexible polycyclique avec des groupements fonctionnels COOH, et hydroxyde phénolique OH dans un réseau à trois dimensions, avec une haute densité de groupements HSO<sub>3</sub> qui remplacent l'acide sulfurique [29,30]. Ce catalyseur peut être facilement préparé par une carbonisation partielle des composés organiques naturels tels la cellulose ou l'amidon, suivi d'une sulfonation du carbone amorphe résultant [29,30].

La réaction d'hydrolyse de la cellulose est catalysée par le charbon actif grâce à la dissociation des H<sup>+</sup> du catalyseur acide lorsque celui-ci est placé en solution aqueuse telle que montrée à la figure 1.8. Cette dissociation permettra la réaction des ions H<sup>+</sup> avec la cellulose en suspension. L'hydrolyse sera grandement améliorée par un contact direct entre la cellulose et la surface du catalyseur.

**Tableau 1.2 Caractéristiques des catalyseurs solides**

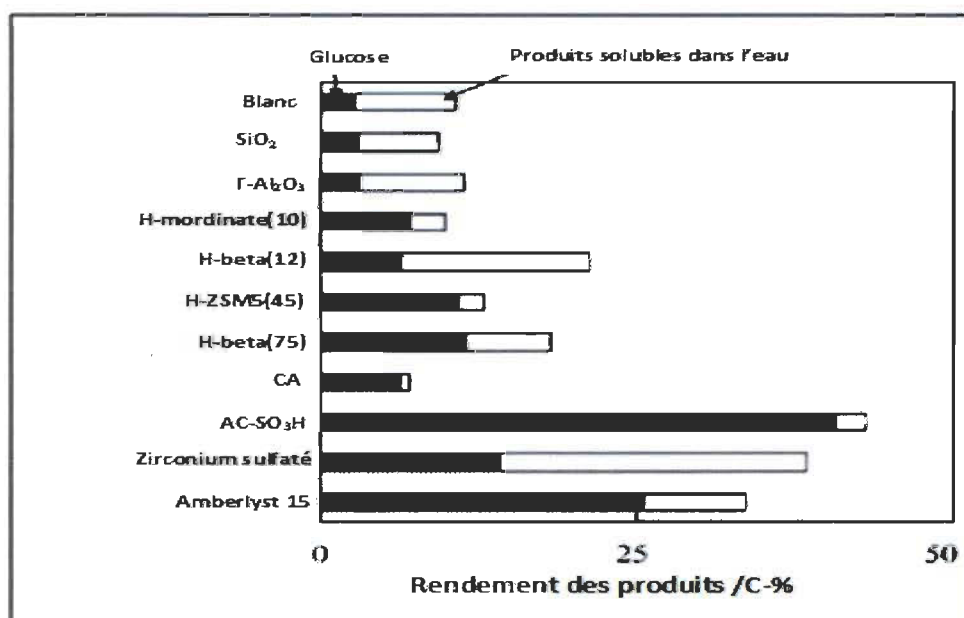
catalyseurs	Ratio molaire Si/Al	Soufre mmol g <sup>-1</sup>	Sites acides mmol g <sup>-1</sup>	Surface spécifique m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>
<b>SiO<sub>2</sub></b>	nd	nd	0,095	407
<b>γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	nd	nd	0,049	140
<b>H-mordinate(10)</b>	10	nd	0,7	15
<b>H-beta(12)</b>	13	nd	1,05	105
<b>H-ZSM5(45)</b>	45	nd	0,30	124
<b>H-beta(75)</b>	75	nd	0,18	315
<b>Charbon activé</b>	nd	0,00	1,25	1243
<b>AC-SO<sub>3</sub>H</b>	nd	0,44	1,63	806
<b>Zirconium sulfaté</b>	nd	1,2	1,6	52
<b>Amberlyst 15</b>	nd	1,7	1,8	nd

D'autres types de catalyseur solide sont utilisés en industrie dont les zéolites. Caractérisées par leur grande surface spécifique, les zéolites sont des catalyseurs dispendieux, ils sont facilement disponibles, récupérables, et réutilisables. La zéolite est un minéral microporeux appartenant au groupe des silicates, polymères inorganiques complexes, qui a une forte charge négative compensée par plusieurs cations Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup>. Elles peuvent être utilisées comme catalyseur acide pour l'hydrolyse de la cellulose [31], peuvent adsorber le lien β-1,4 glycane à leur surface, ainsi il en résulte une plus grande activité hydrolytique catalytique. Leurs caractéristiques font d'elles des matériaux uniques comparés aux autres matériaux solides, leur composition chimique globale et leurs propriétés d'adsorption sont des plus intéressantes [31].



**Figure 1.8** Dissociation des protons du catalyseur en présence d'eau

En comparant le charbon activé à la zéolite et aux autres catalyseurs solides, il a une grande activité et une sélectivité remarquable pour la production de glucose à partir de la cellulose voir figure 1.9 [28,25]. Le rendement en glucose est le plus élevé avec une valeur entre 40 et 50 % comparativement aux autres types de catalyseurs dont les valeurs sont entre 10 et 25 % (figure 1.9). En conclusion, le carbone activé Ac-SO<sub>3</sub>H présente la meilleure activité catalytique, efficacité et sélectivité. De plus, il est peu dispendieux ce qui en fait un catalyseur solide de choix.



**Figure 1.9** Le rendement en sucres obtenu après hydrolyse par différents catalyseurs [28]

### 1.3.4. Hydrolyse enzymatique

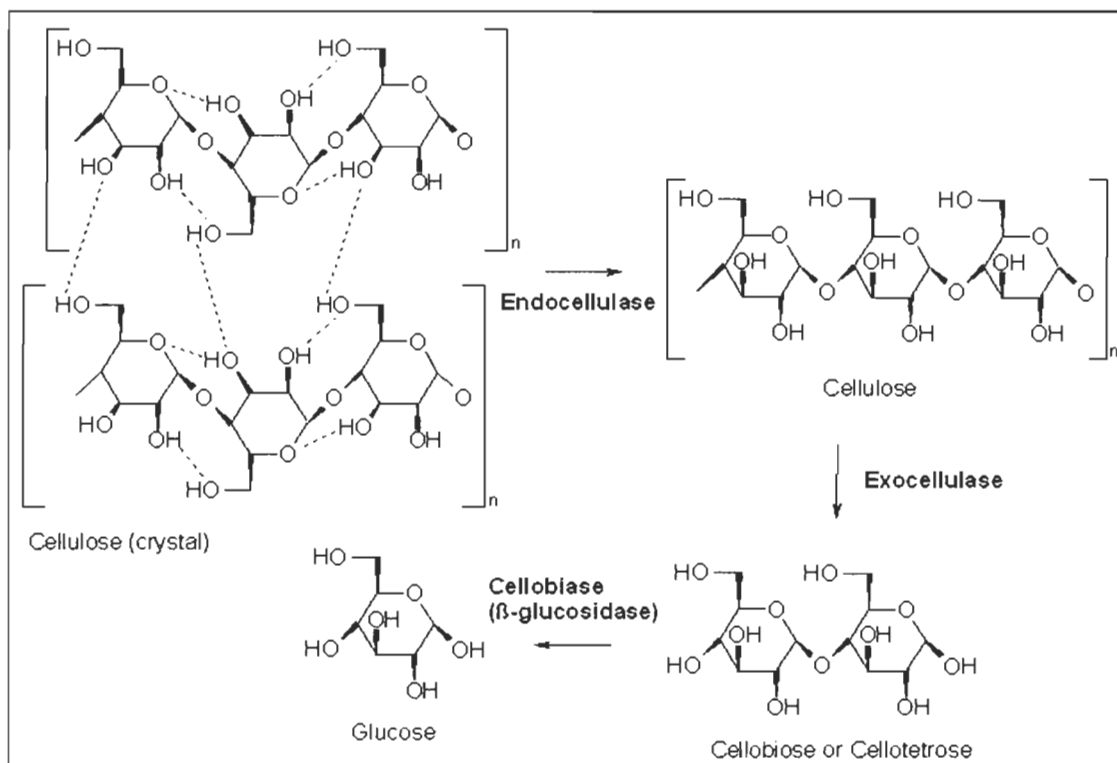
L'hydrolyse de la cellulose par des enzymes est souvent la voie préconisée pour l'obtention des sucres. La plupart des évaluations économiques sont en faveur de l'hydrolyse enzymatique comparativement à l'hydrolyse chimique. Elle génère peu d'effluents à traiter et peu ou pas de problèmes de corrosion. Elle présente un potentiel d'amélioration beaucoup plus grand que l'hydrolyse chimique qui a fait l'objet de travaux depuis plusieurs dizaines d'années [19].

Les enzymes sont des protéines ayant chacune une fonction catalytique bien spécifique. Elles sont produites par des organismes biologiques donc elles sont renouvelables et biodégradables. Les enzymes impliquées dans la dégradation de la cellulose sont appelées communément cellulase. Elles sont soit sécrétées dans le milieu (cas essentiellement des champignons), soit associées à la surface externe des micro-organismes formant des systèmes complexes appelés cellulosomes (cas des bactéries anaérobies) [19]. L'hydrolyse enzymatique de la cellulose est un processus complexe qui exige la participation de plusieurs enzymes, voir figure 1.10. Selon Pettersson [32], au moins trois enzymes (l'endo- $\beta$ -1,4-glucanase, l'exo- $\beta$ -1,4-glucanase et la  $\beta$ -1,4-glucosidase) seraient impliquées dans ce processus. Dans un premier temps, l'endoglucanase attaquerait la cellulose microcristalline dans les régions amorphes, créant des failles dans les chaînes linéaires. Cette action serait suivie par l'action en ces points de rupture de l'exoglucanase ou cellobiohydrolase, qui libère du cellobiose. L'action continue et combinée de ces deux enzymes (endo- et exoglucanases) entraîne la conversion complète de la cellulose en cellobiose et petits oligosides. La  $\beta$ -glucosidase ou cellobiase agit enfin sur le cellobiose et les oligosides pour donner du glucose [33].

Du point de vue du procédé, il est nécessaire, dans un premier temps, de récupérer l'enzyme (la cellulase) du milieu biologique et la conditionner avant son utilisation. L'hydrolyse enzymatique s'effectue par simple mise en contact du matériau prétraité avec la solution enzymatique en assurant l'homogénéité de la suspension et en maintenant les conditions optimales. Ces conditions sont généralement, pour les cellulases, une température de 45 à 50 °C et un pH de 4,8. Le temps d'action est fonction de la quantité d'enzymes ajoutée, de l'activité et du substrat. Pendant l'hydrolyse

enzymatique, les sucres réducteurs sont essentiellement libérés sous forme de glucose [19]. L'évaluation du rendement en sucre réducteur produit permet de connaître l'efficacité de l'hydrolyse en comparant la quantité produite expérimentalement au rendement théorique total [34].

Toutefois, il y a toujours plusieurs obstacles à l'utilisation à l'échelle industrielle de ces procédés enzymatiques. Le taux d'hydrolyse diminue très rapidement ce qui exige un temps de traitement très long [35]. La réduction de l'accessibilité à la surface de la cellulose par des contaminants nuit à la réaction. La faible surface spécifique et une cinétique d'hydrolyse plus lente pour la cellulose cristalline sont autant d'obstacles qui rendent l'hydrolyse enzymatique improductive [35]. L'utilisation d'une quantité importante d'enzyme améliore le taux de conversion, mais elle a une conséquence sur le coût du procédé.



**Figure 1.10 Mécanisme réactionnel des enzymes pour l'hydrolyse de la cellulose**

### 1.3.5. **Récapitulation des méthodes d'hydrolyse**

Le tableau 1.3 résume les conditions, résultats et avantages des différentes méthodes utilisées pour l'hydrolyse de la cellulose.

L'hydrolyse par l'acide sulfurique liquide (30-70 %) donne une efficacité de 90 %, mais a comme inconvénients : la corrosion des matériaux, un procédé non environnemental et un coût de séparation de l'acide trop élevé. Pour l'acide dilué, la consommation d'énergie est élevée et il est nécessaire de neutraliser l'acide. Les enzymes et la zéolite permettent des rendements élevés, mais sont des procédés dispendieux.



**Tableau 1.3** Différentes méthodes d'hydrolyse de la cellulose [7]

<b>Méthodes d'hydrolyse</b>	<b>Conditions</b>	<b>Durée</b>	<b>Efficacité</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> <b>(30-70%)</b>	40 °C	2-6h	90 %	- Corrosion & environnement - Coût de séparation de l'acide
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> <b>(&lt; 1 % )</b>	215 °C	3 min	50-70 %	- Corrosion & environnement - Coût d'énergie
<b>Hydrolyse alcaline</b> <b>NaOH 18 %</b>	100 °C	1h	30 %	- Corrosion & environnement - Rendement
<b>Eau chaude pressurisée</b>	150-250°C 10-25 MPa	0-20 min	< 40 %	- Dégradation du glucose - Coût d'énergie
<b>Hydrolyse enzymatique</b> <b>Cellulase</b>	50 à 70 °C	36 h	75-95 %	- Prétraitement de biomasse - Coût de l'enzyme
<b>Hydrolyse catalyse solide</b> <b>Zéolite</b>	80-150°C	30-90min	90 %	- Coût du catalyseur

#### **1.4. Procédé d'hydrolyse proposé**

Nous proposons, comme procédé d'hydrolyse de la cellulose de la pâte Kraft de feuillus en sucres réducteurs :

- Un prétraitement aux micro-ondes pour faciliter l'accessibilité à la structure de la cellulose en milieu acide en utilisant de l'acide dilué et un catalyseur solide;
- Un traitement d'hydrolyse enzymatique en présence de catalyseur acide solide.

Ce procédé devra être économique, efficace tout en respectant l'aspect environnemental.

## Chapitre 2 - Matériels et méthodes

### 2.1. Pâte Kraft

La pâte kraft utilisée est une pâte de feuillus blanchie. Il s'agit d'une pâte commerciale en provenance d'une usine de l'est du Canada qui a été obtenue sous forme de feuille sèche. La pâte a été défibrée à sec à l'aide d'un moulin Thermotrol (modèle IT-303) puis broyée à l'aide d'un broyeur Wyley-Mill afin d'obtenir un matériel de grande surface spécifique et très absorbant

Sa composition chimique est la suivante [36] :

**Tableau 2.1** Composition chimique de la pâte Kraft utilisée dans le procédé

	Kraft
Lignine (%)	3,5
Cendres (%)	0,1
Extractibles (%)	0,29
Celluloses et Hémicelluloses(%)**	95,5
Particules	Kraft longues fibres

### 2.2. Catalyseur

Le catalyseur choisi pour l'hydrolyse de la cellulose en sucres réducteurs est le charbon activé. Ce dernier sera sulfoné afin d'obtenir une acidité supérieure en surface. Il a pour avantage d'avoir une grande surface spécifique, une grande stabilité hydrothermale, une grande capacité d'adsorption et un faible coût relativement aux autres catalyseurs solides présentés dans l'introduction à la section 1.2.2.3 [28,25].

Le charbon activé est obtenu après plusieurs opérations (pyrolyse et oxydation) qui permettent d'obtenir un matériau poreux. La structure poreuse permet d'augmenter notablement la surface d'échange. Il est sous forme de poudre ou de grains très légers. La très grande porosité du charbon actif, permettant une surface d'échange de l'ordre de 500 à 1500 m<sup>2</sup> par gramme, lui confère un grand pouvoir d'absorption. Le charbon utilisé, dans notre procédé d'hydrolyse, provient de Mead Westvaco. Son nom commercial est le RGC50. Il a démontré une grande stabilité et réactivité dans plusieurs applications [37]. Le tableau 2.2 résume les propriétés du charbon RGC50 activé utilisé comme catalyseur.

**Tableau 2.2** Propriétés du charbon RGC50 de Mead Westvaco [37]

Catalyseur	Masse volumique (g/cm <sup>3</sup> )	T(°C) d'auto-inflammation
Charbon actif RGC50	0,33	340

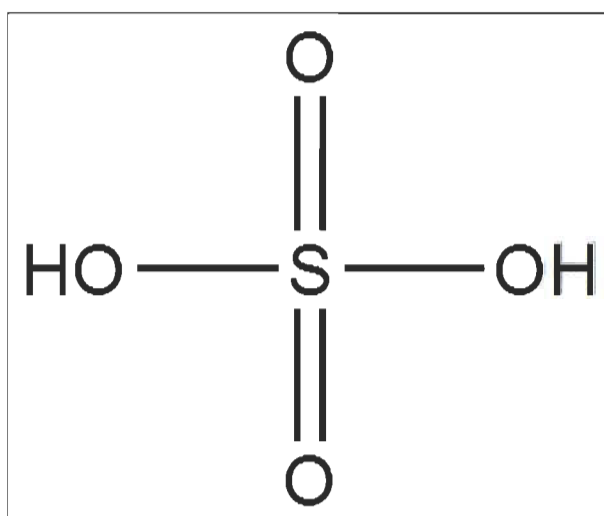


**Figure 2.1** Charbon actif utilisé comme catalyseur.

### 2.3. Acide sulfurique

Le principal produit utilisé dans ce procédé est l'acide sulfurique pour la préparation du catalyseur

L'acide sulfurique (96 %), est utilisé pur sans dilution, sa formule chimique est représentée à la (figure 2.2).



**Figure 2.2** Structure moléculaire de l'acide sulfurique

## 2.4. Appareil à micro-ondes

L'appareil à micro-ondes Multiwave 3000 d'Anton Paar a été utilisé pour le prétraitement de la cellulose. Cet appareil peut être utilisé pour plusieurs types d'échantillons, dont les mélanges solides. Les échantillons sont placés dans des bombes fermées sur un carrousel pouvant contenir jusqu'à 16 échantillons. Les bombes fermées permettent d'éviter toutes pertes de matière ou de rendement au moment des réactions. De plus, il possède un système de refroidissement par air pulsé qui lui permet de maintenir une température et une pression stable pour chacun des échantillons. De cette façon, un contrôle plus précis et plus adapté pour tous les types de réactions est obtenu. Un système de contrôle intégré donne la possibilité d'avoir un suivi en continu des réactions au moment même du déroulement de la réaction [33]. La figure 2.3 représente l'appareil à micro-ondes accompagné des capsules utilisées pour le prétraitement des échantillons.



**Figure 2.3** Multiwave 3000 accompagné des capsules utilisées pour le prétraitement

## 2.5. Enzyme

Le type d'enzyme choisi pour l'hydrolyse de la pâte Kraft est un mélange d'enzymes commerciales qui se trouve sous forme d'une solution aqueuse brune à un pH entre 4,8 et 5,2. Ce mélange est composé principalement d'exoglucanases, endoglucanases, d'hemicellulases et de bêtaglucosidases. L'activité de l'endoglucanase du mélange enzymatique est exprimée en termes d'activité en présence de carboxyméthylcellulose ou CMC. Il s'agit d'évaluer combien de  $\mu$ moles de sucres réducteurs sont libérées de la CMC en une minute sous les conditions opératoires de 50 °C et un pH de 4,8. L'activité des bêtaglucosidases est rapportée par les unités de para-nitrophenyl-BD-glucopyranoside. Une unité de pNPG désigne 1  $\mu$ mol du nitrophénol libéré à partir du pNPG en 10 minutes à 50 °C et un pH de 4,8, tel que mentionné par le fournisseur [38]. L'activité de l'endoglucanases est de 2500 CMC U/g, et celle du bêtaglucosidase est de 400 pNPG U/g. Le mélange enzymatique a la meilleure stabilité opérationnelle à des températures de 50 à 65 °C; et à un pH de : ,0 à 5,0 [38]

## 2.6. Design d'expérience

L'utilisation de plans d'expérience de design mixte est nécessaire afin d'optimiser les conditions de réactions. Les conditions des plans d'expérience seront définies au chapitre résultats. L'analyse des résultats obtenus s'est faite par l'utilisation de logiciels spécialisés de statistique tels que JMP 9.0 de SAS. Le design mixte permet d'obtenir un design qui peut combiner un design de mélange, des variables continues et des variables catégoriques. Il s'agit de spécifier les variables et leurs rôles ainsi que les interactions désirées et le logiciel génère une matrice de tous les essais possibles pour ensuite appliqués l'algorithme D-optimal afin de minimiser le nombre d'expériences. L'algorithme D-Optimal est utilisé afin d'effectuer seulement les essais nécessaires afin d'obtenir une variance minimale de l'estimation des paramètres. Le plan d'expérience ainsi généré n'est pas orthogonal et comporte certaine corrélation entre l'estimé des effets. Il sera également toujours possible d'ajouter des essais en utilisant ce même algorithme de calcul afin d'améliorer le modèle de prédiction. On doit spécifier une matrice d'essai potentiel, un modèle ainsi qu'un nombre d'essais désiré. Le critère de

sélection de la meilleure combinaison se fait par la maximisation du déterminant de la matrice  $|X'X|$  où la matrice  $X$  contient la combinaison d'essai potentiel. Le déterminant de cette matrice est maximal lorsque les colonnes sont plus indépendantes entre elles.

La figure 2.3 qui suit représente un exemple de design qui a servi à optimiser le procédé. Il a été nommé DE-01. Les conditions utilisées pour le prétraitement variaient de 0 à 1 g pour le charbon, de 0 à 33 g pour l'acide sulfurique 1M, entre 110-150 °C pour la température, et de 15 à 30 min pour la durée. Trois designs expérimentaux, DE-01, DE-02 et DE-03, ont été conçus afin de déterminer les meilleures conditions de prétraitement pour l'hydrolyse enzymatique.

**Tableau 2.3** Design expérimental DE-01 choisi pour déterminer les conditions optimales du procédé

N°	Charbon (g)	Acide sulfurique 1M,(g)	Température ( °C)	Durée (min)
1	1	0	150	15
2	0,5	16,5	140	22,5
3	0,5	16,5	140	22,5
4	0	33	130	30
5	0	33	150	15
6	0,5	16,5	140	22,5
7	0	0	150	30
8	1	33	130	15
9	1	33	150	30
10	1	0	130	30
11	0	0	130	15

Voici quelques définitions concernant les termes et les profils utilisés pour l'analyse des données par JMP [39].

L'analyse de la variance nous permet d'avoir une idée sur la signification du modèle choisi, et cela dépend de la valeur de  $\text{prob}>f$  qui nous permet de tester la validité du modèle choisi et sa signification.

L'estimation de coefficients, dans ce type d'analyse on peut déterminer les facteurs les plus influents dans le modèle du procédé en comparaison avec d'autres facteurs présents



dans ce dernier, les prob>t, nous permettent de déterminer la signification des paramètres. Pour cela, le système effectue la différence entre la valeur réelle testée et celle hypothétique, afin d'obtenir une prob>t plus petite que 0,05 ou cette dernière indique la signification d'un paramètre.

Le profil de prévision est caractérisé par la fonction de désirabilité qui est basée sur la transformation de toutes les réponses obtenues à partir de différentes échelles de mesure en une échelle identique de désirabilité sans dimension. Les valeurs des fonctions de désirabilité (di) sont comprises entre 0 et 1, la valeur de 0 est attribuée lorsque les facteurs conduisent à une réponse inacceptable (non désirable) et celle de 1 lorsque la réponse représente la performance maximale désirée pour les facteurs considérés. Ce type d'analyse nous permet d'optimiser nos paramètres et de déterminer dans quel intervalle nous pouvons étudier les effets dans notre procédé.

Le profil d'interaction nous permet d'observer les interactions entre les différents paramètres avec leurs effets.

## **2.7. Méthodes**

### **2.7.1. Analyse de la composition de surface du catalyseur par spectroscopie photoélectronique avec rayon X (XPS)**

La composition de la surface du catalyseur solide, soit le charbon activé, doit être analysée pour évaluer si l'activation à l'acide sulfurique concentré a été un succès. La spectroscopie photoélectronique à rayon X (XPS) est tout indiquée pour cette fonction. Cette méthode permet d'analyser précisément la nature chimique d'un matériau donné et, peut être utilisée pour caractériser la surface de tout type de solides : biomatériaux, catalyseurs, fibres, verres, métaux, minéraux, polymères. Des analyses quantitatives peuvent être également extraites des spectres XPS normalisés en se basant sur la surface sous les pics. L'identification de l'état chimique d'un élément peut être obtenue à partir de la mesure exacte de la position des pics et de leurs séparations en énergie.

### 2.7.2. Quantification des sites acides du charbon activé par titrage

Malgré la confirmation de la présence des groupements fonctionnels souhaités, il est aussi préférable de s'assurer du potentiel actif du catalyseur solide acide. Un titrage est ainsi utilisé afin de déterminer les sites acides actifs. Dans cette méthode, une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (0,01 N, 20 mL) est ajoutée au catalyseur (0,05g). Le mélange est laissé pendant 2 heures à la température de la pièce. 10 mL de surnageant sont ensuite récupérés à la pipette volumétrique, titrés avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (0,01 N) en utilisant de la phénolphthaléine comme indicateur coloré. Le nombre d'équivalents-grammes en sites actifs, est ensuite calculé, en calculant le nombre d'équivalents NaOH fixé sur le charbon donc en soustrayant le volume du HCl, du volume de NaOH et en convertissant en équivalent par gramme de charbon.

Les résultats de titrage d'un catalyseur solide de charbon avant et après activation sont présentés dans le tableau 2.4 qui suit à titre d'exemple.

**Tableau 2.4 Résultats de titrage des sites acides de Bronsted sur de la cellulose**

Catalyseur	Non activé	Activé	Augmentation des sites acides de Bronsted
Cellulose	1,25 meq g <sup>-1</sup>	1,63 meq g <sup>-1</sup>	0,38 meq g <sup>-1</sup>

### 2.7.3. Évaluation du rendement de l'hydrolyse par dosage colorimétrique des sucres réducteurs au PAHBAH

La pâte Kraft étant constituée principalement de cellulose, et d'hémicellulose (=95 %) il est possible d'estimer la quantité de sucres réducteurs (glucose, acide galacturonique, galactose, cellulobiose, xylose) maximum pouvant être obtenue par hydrolyse complète. Ainsi, pour connaître l'efficacité d'un procédé d'hydrolyse il suffit de doser les sucres réducteurs présents en solution et de les comparer à la quantité maximale possible. Un sucre réducteur est un sucre qui perd un électron lors d'une réaction d'oxydoréduction, les sucres peuvent être sous forme monomérique ou polymérique. L'une et l'autre des deux formes ne possédant qu'un bout réducteur peu importe le nombre d'unités de

sucres dans la molécule. La quantité de molécules possédant des bouts réducteurs peut être facilement déterminée par une méthode colorimétrique de dosage. La méthode à l'acide para hydroxy benzoïque (PAHBAH) est celle qui a été utilisée dans cette étude.

Dans cette méthode, 0,5 g de PAHBAH sont dissouts dans 50 mL de NaOH 1M (0,5 % PAHBAH, 0,5M NaOH) suivi de l'ajout de 50 mL d'eau. Cette solution doit être préparée à chaque utilisation et doit être utilisée dans les deux heures qui suivent. Pour doser un échantillon, 1 mL de solution de PAHBAH 0,5 %, 0,5M NaOH est ajouté à 50  $\mu$ L d'échantillon dans un microtube. Le microtube est chauffé à 100 °C pendant 10 minutes et ensuite refroidi dans un bain glacé pendant 5 minutes. Une aliquote de 200  $\mu$ L d'échantillon est transférée dans une plaque multipuits afin de lire l'absorbance à 405 nm [34]. L'appareil utilisé pour lire les plaques est un spectrophotomètre Multiskan Ascent de la compagnie Thermo Electron Corporation. En comparant le dosage de l'hydrolysate avec un courbe étalon de glucose (laquelle va de 0 à 10 mM), la quantité de bouts réducteurs obtenus par l'hydrolyse peut être connue.

#### **2.7.4. Préparation du catalyseur**

Dans un erlenmeyer de 500mL conditionné sous azote, 60 g de charbon RCG50 (Mead Westvaco) ont été ajoutés à 300mL d'acide sulfurique 96 % pour obtenir une concentration de charbon de 18,3 g/L. Le mélange a été chauffé dans un bain d'huile pendant 20 h à 144 °C. Le mélange a ensuite été filtré sur un filtre en fibre de verre et lavé à l'eau chaude distillée à plusieurs reprises afin d'éliminer tous les ions  $\text{SO}_4^{2-}$ . Le catalyseur a ensuite été séché au four à 150 °C pendant 4 heures, une autre série de rinçage a été effectuée pour s'assurer que tous les ions  $\text{SO}_4^{2-}$  soient éliminés. Le catalyseur a été remis au four pour être séché une autre fois pendant 2 h à 150 °C [28]. La surface du charbon a été caractérisée par XPS et les sites acides du catalyseur ont été déterminés par titrage tel que décrit précédemment, à la section 2.7.2.

#### **2.7.5. Prétraitement de la pâte Kraft**

La pâte Kraft a été préparée tel que décrit à la section 2.1. Dans le but de déterminer les conditions optimales pour le prétraitement de la pâte Kraft, la quantité initiale de la pâte

a été fixé 0,5 g et la quantité d'eau à 32 g, les paramètres suivants ont été variés : le type et la quantité du catalyseur (acide sulfurique 1M ou charbon activé), la durée du prétraitement et la température aux micro-ondes. Afin de mieux étudier et gérer ces paramètres, l'utilisation de plan d'expérience est nécessaire afin d'optimiser le procédé.

#### **2.7.6. Hydrolyse enzymatique**

Une fois les échantillons récupérés du prétraitement aux micro-ondes, on passe à la digestion enzymatique. La première étape est la préparation du tampon acétate 200mM pour que l'enzyme soit dans un environnement où son efficacité est optimale. Le tampon est préparé en mélangeant une solution d'acide acétique 0,2 M (20,4mL d'acide acétique glacial dans 1L d'eau distillée) avec une solution d'acétate de sodium 0,2M (16,4 g de  $C_2H_3O_2Na$  dans 1L d'eau distillée) dans les proportions requises pour obtenir un pH de 4,7. Les échantillons provenant du prétraitement sont filtrés sur un filtre en fibre de verre après leur sortie du four à micro-ondes. Le gâteau obtenu est ensuite placé dans des tubes de 50mL dans lesquels 20mL de tampon acétate 200mM, pH de 4,7 sont ajoutés.

Trois échantillons non traités aux micro-ondes ont également été préparés afin de déterminer l'efficacité du prétraitement sur la pâte. La quantité de pâte à hydrolyser a été fixée à 0,5 g et la quantité de charbon activé a été variée de 0 à 1 g comme dans les essais aux micro-ondes (voir tableau 2.5).

**Tableau 2.5 Échantillons sans traitement aux micro-ondes**

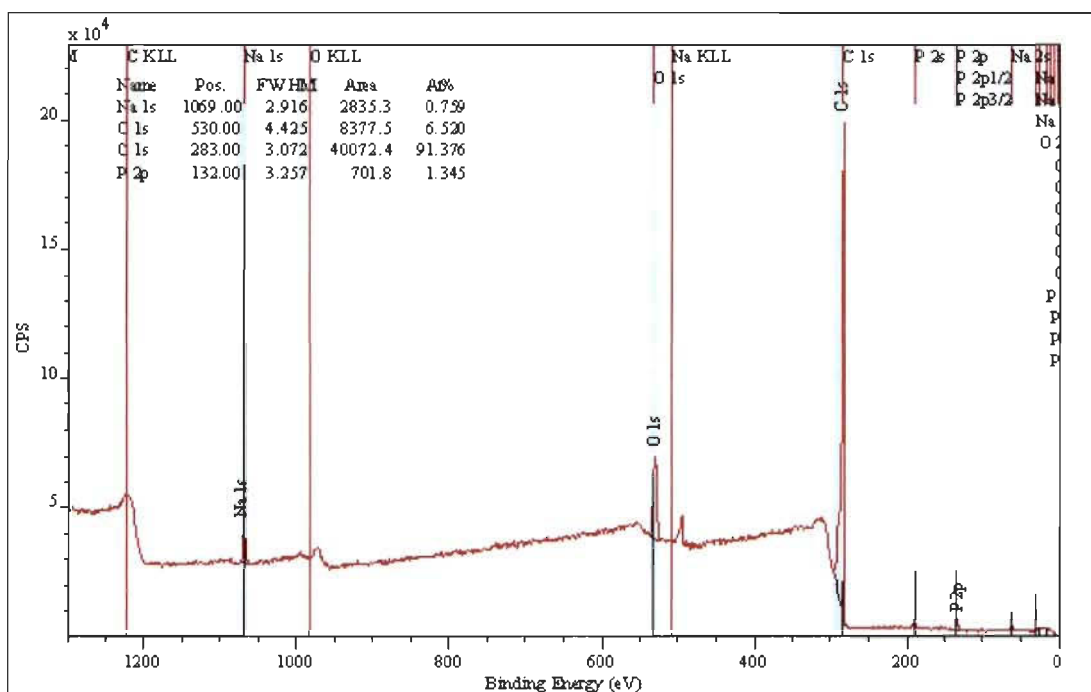
Essais	Pâte (g)	Charbon (g)	Tampon acétate (ml) (20 mM, pH4,7)
A	0,5	1	20
B	0,5	0,5	20
C	0,5	0	20

La quantité requise d'enzyme (300  $\mu$ L) a été ajoutée aux échantillons de 20mL et ces derniers ont été placés dans un incubateur à 50 °C pour 24 h. Des aliquotes de 500  $\mu$ L de chacun des échantillons ont été prélevés d'abord toutes les heures et ensuite toutes les 6 heures pour suivre le déroulement de la réaction enzymatique. Les aliquotes prélevés ont été refroidies sur la glace pendant 10 minutes pour désactiver l'enzyme et conservés au congélateur jusqu'au moment des dosages colorimétriques des sucres réducteurs au PAHBAH tel que décrit à la section 2.7.3.

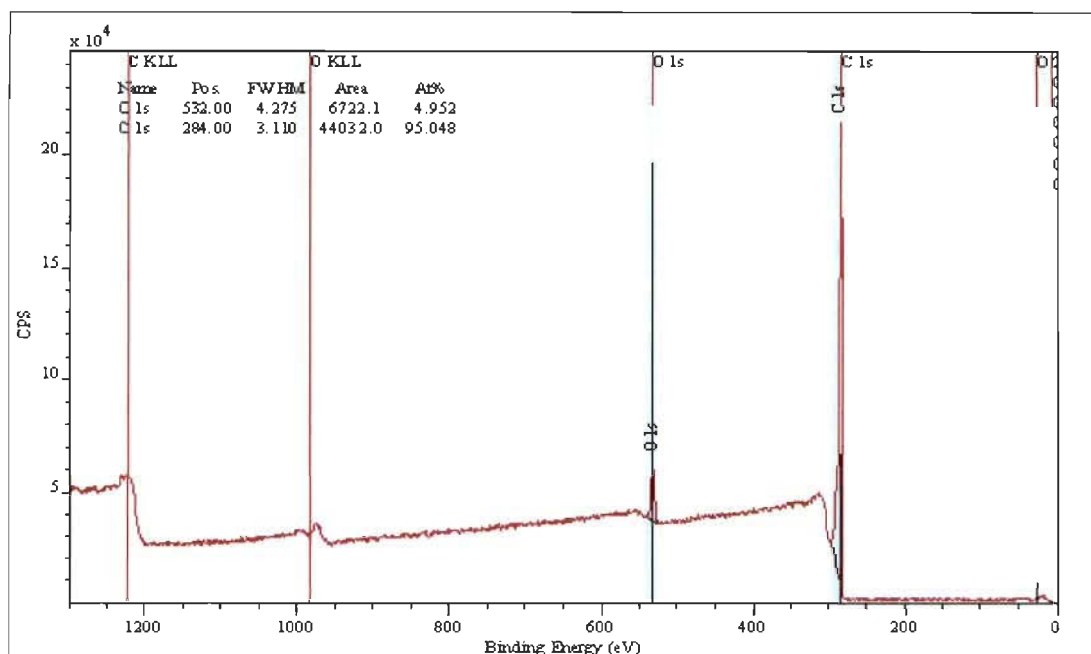
## Chapitre 3 - Résultats

### 3.1 Caractérisation de la surface du catalyseur

Dans le but de déterminer si l'activation du charbon à l'acide sulfurique avait fonctionné, la surface d'un échantillon de charbon activé sulfoné et celle d'un échantillon de charbon activé non sulfoné ont été caractérisées par XPS. La figure 3.1 présente la composition chimique de la surface du charbon non sulfoné et la figure 3.3 la composition du charbon sulfoné.



**Figure 3.1** Composition chimique de la surface du charbon non sulfoné



**Figure 3.2** Composition chimique de la surface du charbon sulfoné

Les échantillons de charbon non sulfoné utilisé pour l'analyse ont été lavés et séchés dans le four à 100 °C pendant 24 h et préparés sous forme de pastille dans le but d'avoir des surfaces lisses non rugueuses. La figure 3.1 nous montre une présence importante de carbone à 91,376 %, de l'oxygène à 6,520 %, du phosphore 1,345 %, et une petite quantité de sodium à 0,759 dans le charbon non-sulfoné comparativement à l'absence de phosphore et de sodium dans le charbon sulfoné (95,048 % carbone, 4,952 % oxygène). La présence du sodium et du phosphore sur la surface du charbon non sulfoné pourrait être due à la présence de sel déjà adsorbé à la surface du charbon tel que reçu par Mead Westvaco. L'absence du sodium et du phosphore au niveau de la surface du charbon sulfoné pourrait s'expliquer par le fait que le traitement d'activation du charbon par l'acide sulfurique permettrait la formation d'acide phosphorique et de sel de sodium soluble dans l'eau et éliminé de la surface lors de lavage. Le faible pourcentage atomique du soufre comparativement au carbone ne permet pas de détecter sa présence sur le spectre XPS. Par contre, un titrage tel que décrit à la section 2.7.2 démontre que le charbon a augmenté son acidité de surface. Les résultats de titrage du charbon non activé et activé sont présentés dans le tableau 3.1.

**Tableau 3.1 Résultats de titrage des sites acides de Bronsted des charbons**

Catalyseur	Non sulfoné	Sulfoné	Augmentation des sites acides de Bronsted
<b>Charbon</b>	0,543 meq g <sup>-1</sup>	1,034 meq g <sup>-1</sup>	0,491 meq g <sup>-1</sup>

Les résultats présentés indiquent que le catalyseur synthétisé possède 0,491 meq g<sup>-1</sup> de sites actifs de plus après le traitement par l'acide sulfurique ce qui est plus élevé que celui retrouvé dans la littérature qui est de 0,38 meq g<sup>-1</sup>[28]. Le charbon semble donc apte à être utilisé pour les études de prétraitement de la cellulose.

### 3.2 DE-01 Optimisation des paramètres du prétraitement

#### 3.2.1 Rendement du prétraitement du DE-01

Afin d'optimiser les paramètres du prétraitement de la pâte par micro-ondes, nous avons choisi d'utiliser un design d'expérience mixte, tel que décrit à la section 2.6, et de l'analyser avec le logiciel JMP. Le plan d'expérience est conçu dans le but d'optimiser les paramètres du procédé tel que la quantité de charbon, d'acide sulfurique, la température et le temps. Le but est d'obtenir une concentration maximale en sucres réducteurs. Comme il est montré au tableau 3.2, le prétraitement aux micro-ondes a été fait en suivant les quantités et les conditions données par le DE-01 présentées au tableau 2.3 de la section 2.6. L'hydrolyse des échantillons est ensuite complétée à l'aide de l'enzyme et ceux-ci sont analysés pour leurs concentrations en sucres réducteurs par la méthode avec le PAHBAH. Les paramètres du design ainsi que les résultats sont présentés au tableau 3.2.

Avec un R<sup>2</sup> de 0,999 (figure 3.3), nous pouvons conclure que nous avons un modèle avec un bon ajustement puisque notre R<sup>2</sup> est proche de 1 et que l'écart-type est de 5,4. L'étude de la variance nous permet d'avoir une idée sur la signification du modèle choisi. Comme indiqué à la figure 3.3, la valeur de prob>f nous permet de tester la validité du modèle choisi, si la valeur du (prob>f) ≤ 0,05 cela signifie que le modèle est



significatif, on remarque dans les résultats obtenus, une petite valeur de  $(\text{prob}>f) = 0,0083 \leq 0,05$  ce qui implique que le modèle est significatif.

**Tableau 3.2 Plan d'expérimentation et résultats d'hydrolyse DE-01**

	Charbon (g)	Acide sulfurique 1M (g)	Température (°C)	Durée (min)	Concentration en sucres (mM) après 24h
1	1	0	150	15	78,74
2	0,5	16,5	140	22,5	83,85
3	0,5	16,5	140	22,5	83,69
4	0	33	130	30	115,37
5	0	33	150	15	105,98
6	0,5	16,5	140	22,5	83,59
7	0	0	150	30	75,66
8	1	33	130	15	59,59
9	1	33	150	30	55,59
10	1	0	130	30	102,86
11	0	0	130	15	25,23

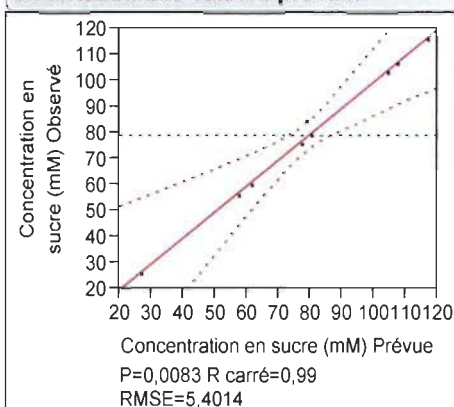
### 3.2.2 Analyse de l'influence des paramètres

L'estimation des coefficients (figure 3.3) permet de déterminer de façon comparative les facteurs les plus influents dans le modèle du procédé. Les  $\text{prob}>t$  présentées, nous permettent de déterminer la signification des effets des paramètres. Pour déterminer la signification des effets des paramètres, le système effectue la différence entre la valeur réelle testée et celle hypothétique, afin d'obtenir une  $\text{prob}>t$  la plus petite que 0,05 ou cette dernière indique la signification de l'effet d'un paramètre.

L'estimation des coefficients nous permet d'observer que l'acide donne une différence significative de  $\text{prob}>t$  très petite de 0,0384, c'est le même cas pour les facteurs, temps, interaction charbon\*acide et charbon\*température qui donnent des valeurs respectives de 0,0136, 0,0012, et de 0,0202, comparativement aux autres paramètres comme le charbon (0,1942), la température (0,4598), l'interaction charbon\*temps (0,0805), qui donnent des valeurs plus élevées que 0,05. Les paramètres qui ont une  $\text{prob}>t$  inférieure à 0,05 ont ainsi plus de chance d'influencer le procédé de prétraitement. Cependant, cela ne veut pas dire que les résultats paramètres ( $\text{prob}>t > 0,05$ ) doivent être exclus, mais l'analyse JMP nous laisse croire qu'ils ont moins d'influence dans le procédé.

### Réponse Concentration en sucre (mM)

#### Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues



#### Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	7	6426,1492	918,021	31,4655
Résidus	3	87,5265	29,176	Prob. > F
Total	10	6513,6757		0,0083*

#### Estimations des coefficients

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	79,104545	1,628594	48,57	<,0001*
charbon (g)(0,1)	-3,1825	1,909696	-1,67	0,1942
Acide sulfurique (g)(0,33)	6,755	1,909696	3,54	0,0384*
Temperature C(130,150)	1,615	1,909696	0,85	0,4598
Temps (min)(15,30)	9,9925	1,909696	5,23	0,0136*
charbon (g)*Acide sulfurique (g)	-23,36	1,909696	-12,23	0,0012*
charbon (g)*Temperature C	-8,645	1,909696	-4,53	0,0202*
charbon (g)*Temps (min)	-4,9625	1,909696	-2,60	0,0805
Acide sulfurique (g)*Temperature C	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps (min)	0	0	.	.
Temperature C*Temps (min)	0	0	.	.

#### Estimations des coefficients triés

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
charbon (g)*Acide sulfurique (g)	-23,36	1,909696	-12,23	0,0012*
Temps (min)(15,30)	9,9925	1,909696	5,23	0,0136*
charbon (g)*Temperature C	-8,645	1,909696	-4,53	0,0202*
Acide sulfurique (g)(0,33)	6,755	1,909696	3,54	0,0384*
charbon (g)*Temps (min)	-4,9625	1,909696	-2,60	0,0805
charbon (g)(0,1)	-3,1825	1,909696	-1,67	0,1942
Temperature C(130,150)	1,615	1,909696	0,85	0,4598
Acide sulfurique (g)*Temperature C	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps (min)	0	0	.	.
Temperature C*Temps (min)	0	0	.	.

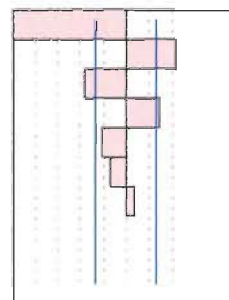
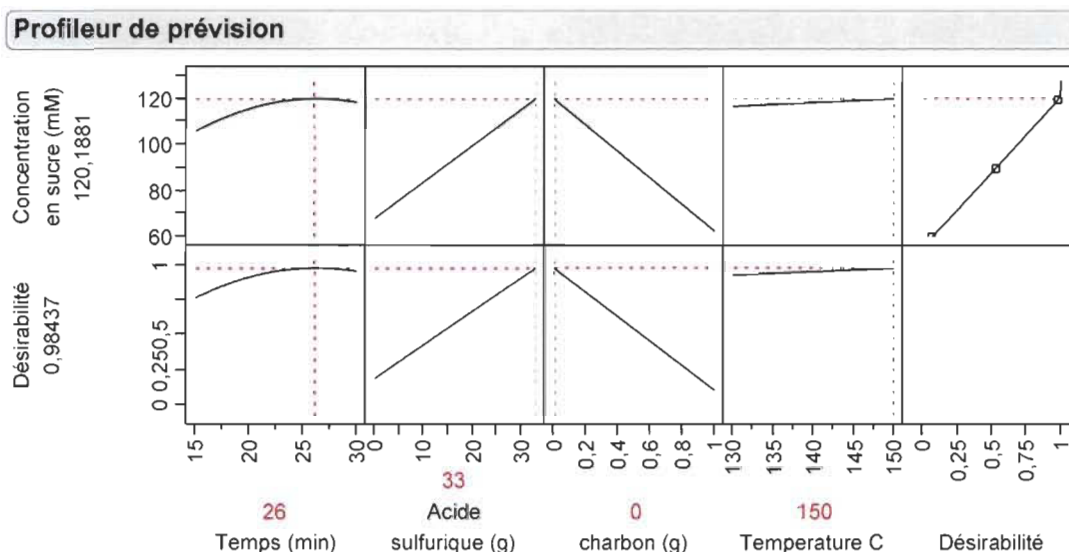


Figure 3.3 Modèle de prédiction du rendement DE-01

Les facteurs temps et acide ont une influence significative positive sur le procédé. Leurs rapport  $t$  sont respectivement de 5,23 et 3,54, cela signifie que, la concentration en sucres augmente quand le facteur passe du niveau bas au niveau haut; plus on augmente la quantité en acide avec un temps plus long plus la concentration en sucres augmente. Dans le cas des interactions charbon\*acide et charbon\*température c'est l'effet inverse qui se produit, le rendement en sucres baisse quand ces facteurs passent du niveau bas au niveau haut. Plus les concentrations en charbon et en acide sont élevées, et ce simultanément, plus la concentration en sucres diminue de même lorsque la concentration de charbon et la température sont élevées en même temps. Concernant les autres effets, on remarque qu'ils ne sont pas significatifs. La figure 3.4 représente le profil de prédiction déterminé par le système du logiciel JMP ou les valeurs rouges indiquées dans la figure représentent les valeurs optimales pour maximiser la concentration en sucres



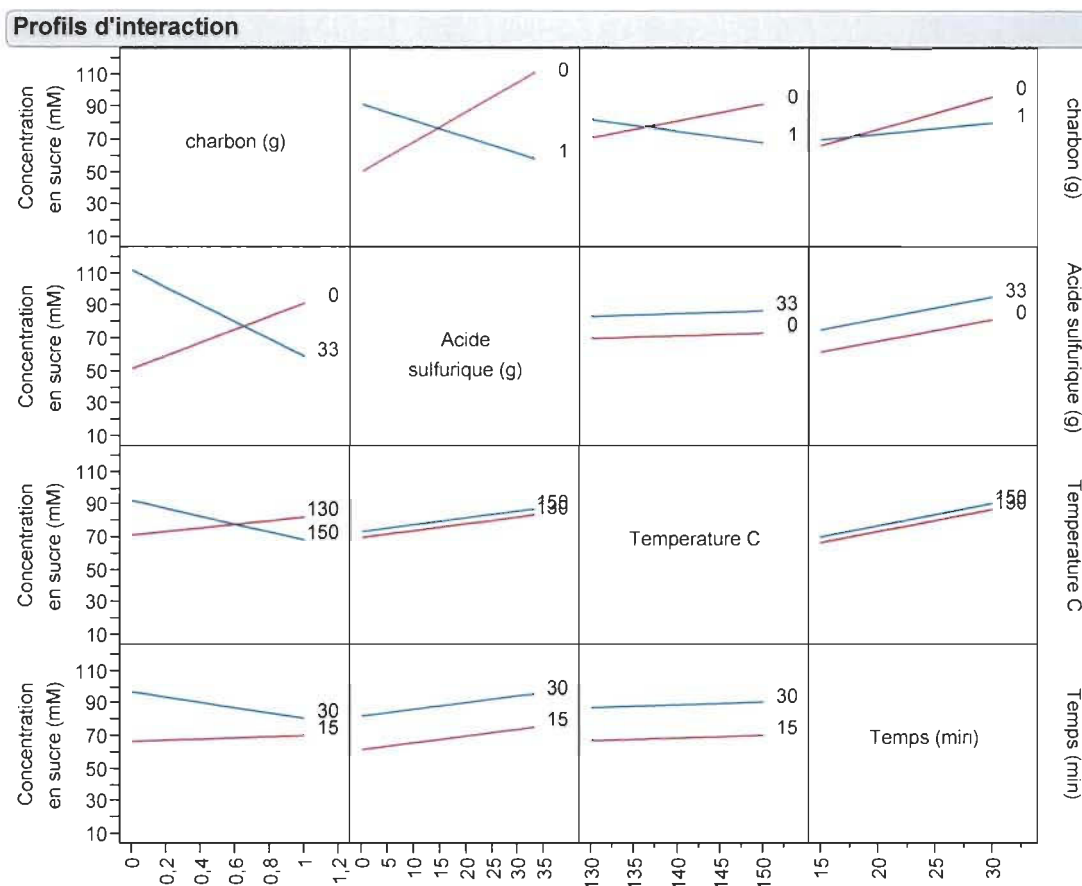
**Figure 3.4 Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-01**

L'augmentation du temps et de la quantité d'acide sulfurique ont un effet positif sur la concentration en sucres, l'effet étant plus marqué pour l'acide sulfurique. C'est le contraire pour le charbon dont la concentration en sucres, augmente de façon inversement proportionnelle à la quantité de charbon, plus la quantité de charbon est augmentée moins la concentration en sucres est intéressante. L'effet de la température quant à elle est presque nul dans l'intervalle étudié.

Ainsi, on remarque une désirabilité de 0,98, proche de 1, pour un temps de 26 min, une quantité d'acide sulfurique 1M de 33g, une quantité de charbon de 0 g et une température de 150 °C. L'obtention de 0 g pour le charbon peut être expliquée par le fait qu'une quantité importante de charbon crée un encombrement stérique qui ne permet pas aux autres réactifs de bien jouer leurs rôles et d'agir de façon plus efficace. Le charbon peut empêcher d'obtenir un bon mélange lors du traitement aux micro-ondes et lors de la digestion enzymatique, mais ça n'affecte pas le milieu de la digestion enzymatique, car le pH reste le même.

Le profil d'interaction nous permet d'observer les interactions entre les différents paramètres avec leurs effets. La figure 3.5 présente les différentes interactions présentées dans le modèle. La ligne bleu représente le niveau élevé du paramètre identifié à l'extrême droite et la ligne rouge le niveau le plus faible en fonction des variations du paramètre identifié au bas des colonnes (en ordonnée).

Le croisement des droites de niveaux de charbon en fonction de la température du temps et de l'acide sulfurique démontre une interaction significative entre le charbon et les autres paramètres. Par contre pour les trois autres facteurs l'orientation parallèle et positive de leur droite indique que même si ces paramètres ont tous ces effets positifs sur la concentration en sucres, ils n'ont pas d'interactions significatives entre eux. Il semblerait ainsi que pour que la concentration en sucres atteigne son maximum les trois facteurs doivent être aux niveaux les plus hauts testés dans ce design. Cela suggère donc que l'effet d'une augmentation de niveau de ces trois paramètres devrait être étudié.



**Figure 3.5 Profil d'interaction des paramètres à optimiser DE-01**

### 3.2.3 Effet du charbon

Suite aux résultats obtenus avec l'analyse JMP concernant le charbon, il serait logique de l'éliminer simplement des paramètres de prétraitement. Par contre, il ne faut pas oublier que l'analyse effectuée est une prédiction et non le résultat d'expérience prouvant que le charbon diminue réellement et proportionnellement le rendement en sucres. Une expérience a donc été conduite afin d'évaluer si le charbon affecte réellement l'hydrolyse enzymatique et à quelle ampleur. Pour ce faire, de la pâte Kraft a été mise en présence des concentrations de charbon utilisées lors des prétraitements, mais sans être exposée aux autres paramètres (température, temps et quantité d'acide sulfurique). La figure 3.6 présente le rendement de l'hydrolyse enzymatique sur des échantillons de pâte Kraft en présence des concentrations de charbon utilisées pour les prétraitements à l'acide et aux micro-ondes. Les conditions A, B et C sont celles présentées tableau 2.5.

En analysant les résultats de la figure 3.6, nous remarquons que la présence du charbon ne nuit pas à l'hydrolyse enzymatique, car le rendement en sucres est supérieur avec le charbon. Cela peut être expliqué par l'effet des sites acides trouvés sur la surface du charbon qui peuvent, soit aider les enzymes en rendant plus accessibles les liens glycosidiques de la cellulose, soit en l'activant grâce au changement possible de pH qu'ils provoquent en solution. Par contre, le rendement avec 1 g de charbon est inférieur de beaucoup à celui de 0,5 g (50 %). Cela signifie que la quantité optimale du charbon activé pouvant améliorer l'hydrolyse enzymatique se situe entre 0 et 1 g par 0,5 g de pâte Kraft. Il ne faut toutefois pas négliger le fait que la concentration optimale de charbon à utiliser pour le prétraitement est aussi fonction des autres paramètres. Le charbon est donc encore à être considéré dans les paramètres à optimiser dans le deuxième design expérimental.

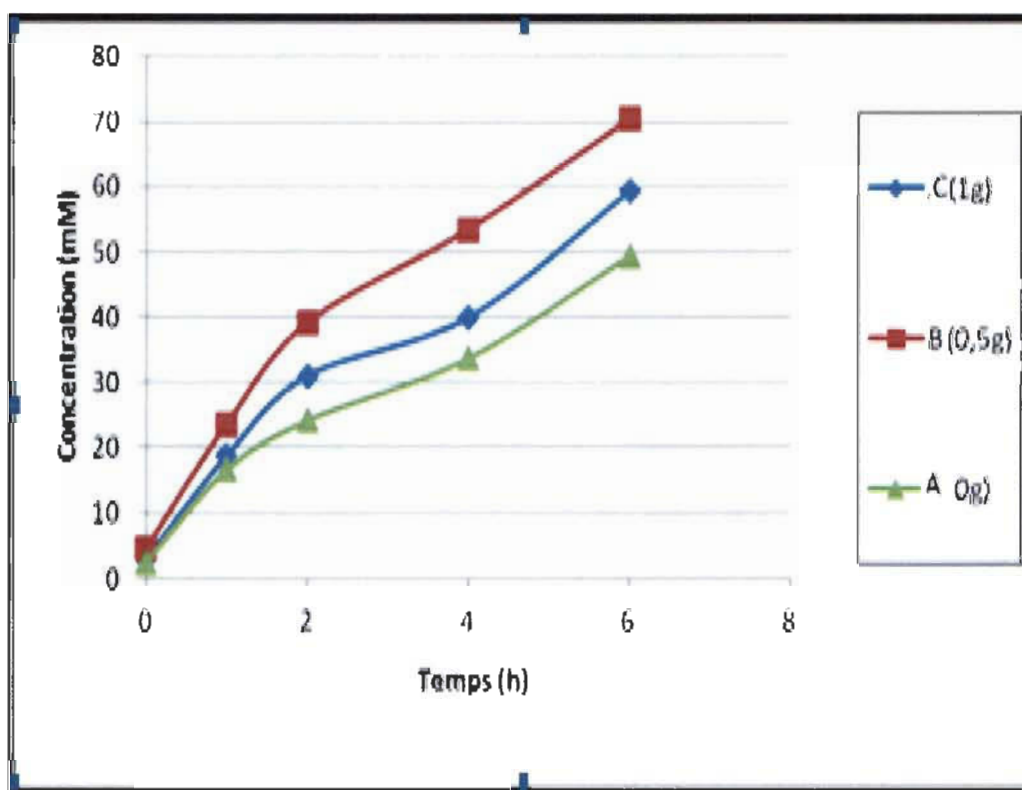


Figure 3.6 Concentration en sucre en fonction du temps pour les conditions du tableau 2.5

### 3.2.4 Effet de l'acide sulfurique

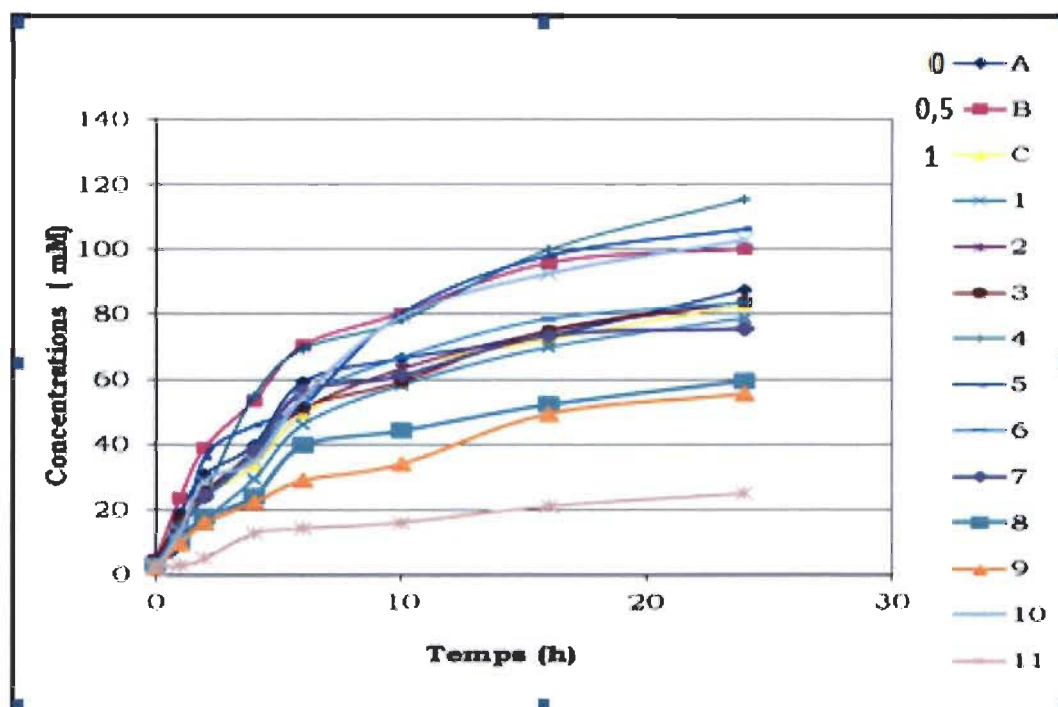
La présence d'acide sulfurique a un effet important sur le rendement de la réaction, comme démontré dans le tableau 3.2. Une quantité d'acide plus importante semble un facteur déterminant à augmenter le rendement en sucres, comme le démontrent les échantillons 4 et 5 dans le tableau 3.2 utilisant la quantité maximum. On remarque des concentrations en sucres respectivement de 115,37 mM, et 105,98 mM. L'acide sulfurique permet l'accès aux liens cellulosesiques et la dégradation de la cellulose en sucres. Les échantillons 1 et 10, où la présence du charbon est maximale, donnent des concentrations en sucre qui sont respectivement 78,74 mM et 102,86 mM. L'acide sulfurique est donc plus efficace ayant une acidité plus forte.,

### 3.2.5 Effet du prétraitement sur la cinétique de réaction

Afin de déterminer l'effet du prétraitement sur la cinétique d'hydrolyse enzymatique de la pâte Kraft et son effet sur le rendement en sucres, les échantillons traités selon le design proposé au tableau 3.2 ont été analysés en fonction du temps de réaction avec les enzymes. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.7.

La figure 3.7 montre l'évolution de la concentration en sucres en fonction du temps, les échantillons A, B, C, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 sont les mêmes que ceux présentés aux figures 3.6 et au tableau 3.2. Comme on peut le constater, la concentration en sucres la plus élevée a été obtenue pour l'échantillon 4, 115,37 mM du design dont le prétraitement avait pour conditions une température de 130 °C un dosage d'acide sulfurique de 33 g, sans charbon, pour un temps de 30 min. Les résultats obtenus par digestion enzymatique seulement sans prétraitement (courbe A, B, C) ont donné des résultats inférieurs à l'échantillon 4 prétraités aux micro-ondes. Cela peut être expliqué par la facilité de l'enzyme à accéder à la structure de la pâte prétraitée.





**Figure 3.7 Concentration en sucre en fonction du temps de la digestion**

En observant les résultats de la figure 3.7, on remarque que certains des échantillons sont hydrolysés plus rapidement que d'autres, surtout dans les premières heures, comme l'échantillon B, qui donne des concentrations intéressantes dès les premières heures, avec un rendement final de 100mM. Il semble donc qu'une quantité de charbon de 0,5 g lors de l'hydrolyse enzymatique permet d'accélérer la réaction initiale. En ce qui concerne l'échantillon 4, on peut en conclure que les conditions de prétraitement permettant d'obtenir une concentration en sucre maximale permettent également d'accélérer la cinétique de réaction.

### **3.3DE-02 Diminution de la quantité de charbon et optimisation des variables**

#### **3.3.1 Rendement de prétraitement**

Après l'analyse des résultats de prétraitement selon le DE-01, il a été décidé d'effectuer une deuxième série de prétraitement dans laquelle la quantité de charbon a été diminuée à des valeurs entre 0 et 0,5 g tandis que les mêmes paramètres ont été conservés pour les



autres variables. Cette série de conditions de prétraitement est représentée dans le design expérimental 2 (DE-02).

Le tableau 3.3 présente le rendement en sucres des échantillons issus du DE-02 après hydrolyse enzymatique.

**Tableau 3.3 DE-02 Plan d'expérimentation sur mesure et résultats d'hydrolyse**

	Charbon (g)	Acide sulfurique 1M (g)	Température °C	Durée (min)	Concentration sucres (mM) après 24h
1	0	33	130	30	80,42
2	0	0	150	30	81,40
3	0,25	16,5	140	22,5	78,93
4	0,5	0	150	15	56,80
5	0,5	33	130	15	106,24
6	0,25	16,5	140	22,5	85,6
7	0	33	150	15	79,29
8	0,5	33	150	30	59,89
9	0,25	16,5	140	22,5	79,78
10	0	0	130	15	25,23
11	0,5	0	130	30	89,86

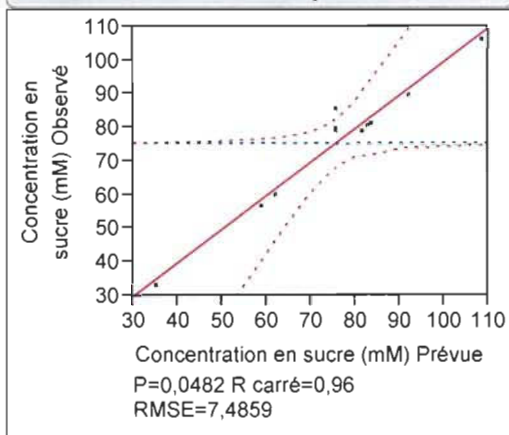
### 3.3.2 Analyse de l'influence des paramètres

Les résultats d'hydrolyse des échantillons issus du DE-02 ont été soumis à la même analyse que celle effectuée pour le premier design afin de compléter l'étude de l'effet de la variation de la quantité de charbon sur le rendement en sucres.

La figure 3.8 représente le modèle de prédiction de rendement en sucres proposé par le logiciel JMP.

### Réponse Concentration en sucre (mM)

#### Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues



#### Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	7	3578,7294	511,247	9,1232
Résidus	3	168,1147	56,038	Prob. > F
Total	10	3746,8441		0,0482*

#### Estimations des coefficients

Terme		Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante		75,574545	2,257074	33,48	<,0001*
Charbon (g)(0,0,5)		-9,36625	2,646654	-3,54	0,0384*
Acide sulfurique (g)(0,33)		8,08375	2,646654	3,05	0,0552
Temperature C(130,150)		-4,03125	2,646654	-1,52	0,2251
Temps (min)(15,30)		-9,67125	2,646654	-3,65	0,0354*
Charbon (g)*Acide sulfurique (g)	Biaisé	10,97125	2,646654	4,15	0,0255*
Charbon (g)*Temperature C	Biaisé	-1,63375	2,646654	-0,62	0,5807
Charbon (g)*Temps (min)	Biaisé	-7,83875	2,646654	-2,96	0,0595
Acide sulfurique (g)*Temperature C	Mis à zéro	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps (min)	Mis à zéro	0	0	.	.
Temperature C*Temps (min)	Mis à zéro	0	0	.	.

#### Estimations des coefficients triés

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Charbon (g)*Acide sulfurique (g)	10,97125	2,646654	4,15	0,0255*
Temps (min)(15,30)	-9,67125	2,646654	-3,65	0,0354*
Charbon (g)(0,0,5)	-9,36625	2,646654	-3,54	0,0384*
Acide sulfurique (g)(0,33)	8,08375	2,646654	3,05	0,0552
Charbon (g)*Temps (min)	-7,83875	2,646654	-2,96	0,0595
Temperature C(130,150)	-4,03125	2,646654	-1,52	0,2251
Charbon (g)*Temperature C	-1,63375	2,646654	-0,62	0,5807
Acide sulfurique (g)*Temperature C	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps (min)	0	0	.	.
Temperature C*Temps (min)	0	0	.	.

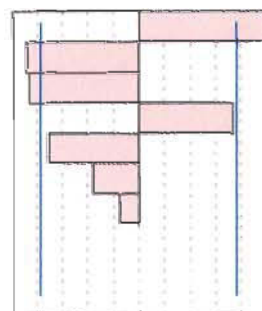


Figure 3.8 Modèle de prédiction de rendement DE-02

La régression linéaire des paramètres est bonne puisque nous avons une bonne corrélation entre la réponse observée et celle prévue. Effectivement, le  $R^2$  de 0,95, et un écart type de 7.5 démontrent que l'ajustement des paramètres est bon.

La valeur de  $\text{prob}>f = 0,0482$ , retrouvée après l'analyse de la variance, présente une valeur à peine inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle est significatif (voir figure 3.8).

L'estimation des coefficients, présentés à la figure 3.8, permet de constater que le charbon, maintenant dans les limites utilisées dans ce deuxième design, a un effet significatif ( $\text{prob}>t = 0,0384$ ) sur le procédé. Par contre son effet est négatif, c'est-à-dire que plus la quantité de charbon est augmentée moins la concentration de sucre est élevée. Les facteurs charbon\*acide et temps, donnent aussi des valeurs de  $\text{prob}>t$  inférieures à 0,05 soit respectivement de 0.0255 et 0.0354 ce qui démontre leur influence sur le procédé. Les autres paramètres comme l'acide, la température, et le charbon\*temps, donnent des valeurs plus élevées que la valeur significative 0,05 et sont donc beaucoup moins significatifs dans le procédé.

L'influence donnée sur le procédé par le facteur temps se compare à celle du facteur charbon, le rendement en sucres est diminué lorsque la durée est augmentée.

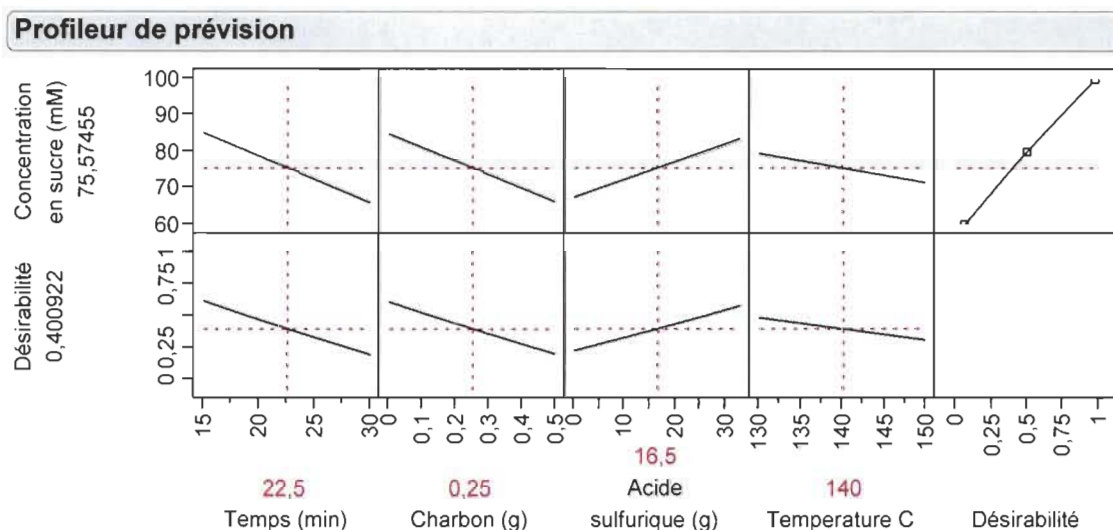
Dans le cas de l'interaction charbon\*acide, l'influence est positive (rapport  $T=4.15$ ) contrairement à ce qui a été observé dans le premier design où le rapport  $t$  était de -12,23. La concentration en sucres augmente quand ce facteur passe du niveau bas au niveau haut.

La figure 3.9 représente le profil de prévision déterminé par le système du logiciel JMP pour le DE-02, selon l'analyse statistique des résultats, afin d'obtenir la concentration en sucres optimale.

L'effet négatif du charbon et l'effet positif de l'acide sulfurique sur la concentration en sucres sont toujours observés. Par contre, pour ce qui est de la température et du temps, leur effet est l'inverse de celui observé au DE-01; plus le temps de séjour est long (15 à 30 min) plus la température est élevée (130 °C à 150 °C) plus la concentration en sucres

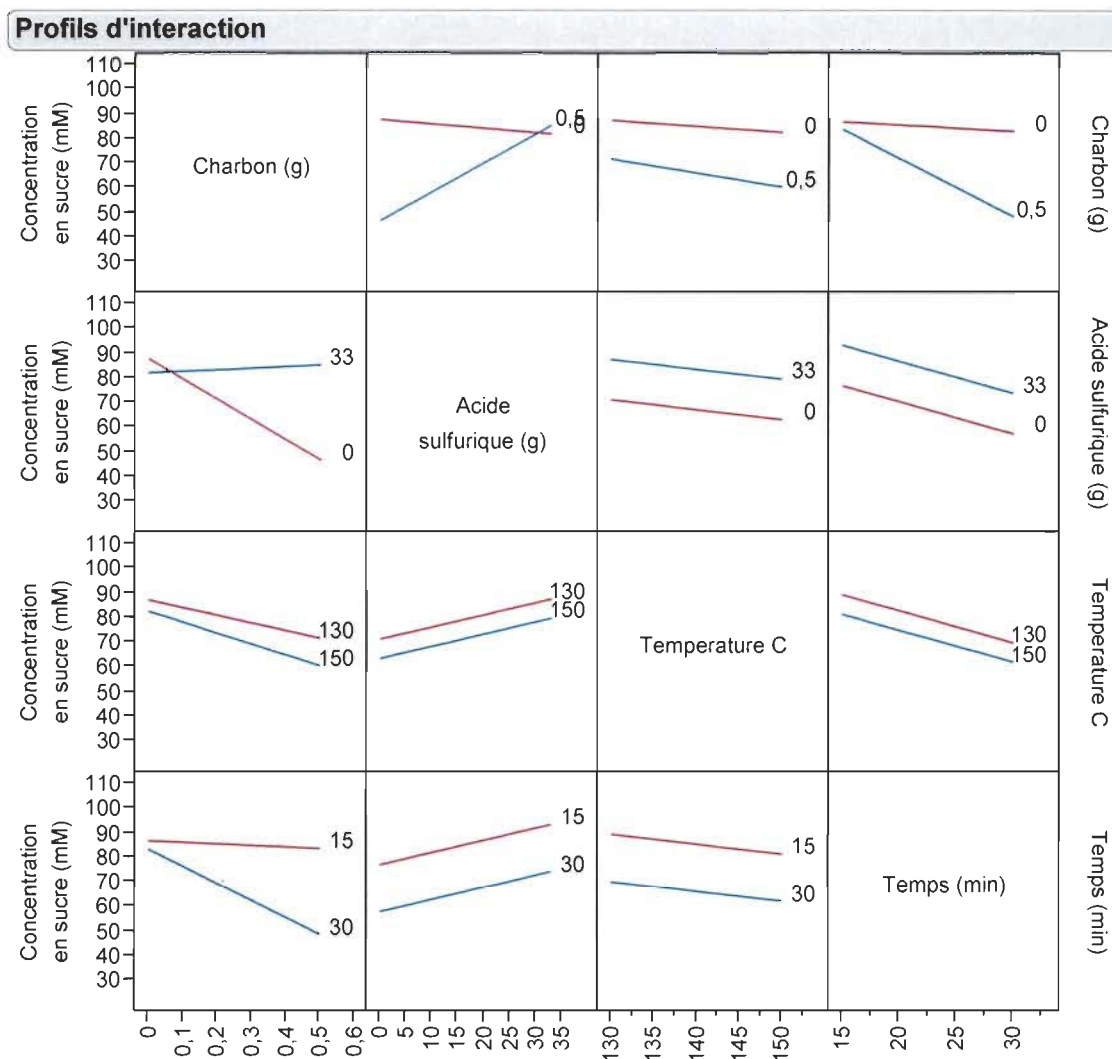
diminue. Cette diminution du rendement en sucres à haute température ou après un long traitement pourrait s'expliquer par la production de produits de dégradation.

Les valeurs proposées par l'analyse statistique de résultats du DE-02 sont de 0,25g de charbon, 16,5g d'acide sulfurique 1M à 140°C pendant 22,5 minutes. Par contre, il est important de mentionner que ces paramètres ne permettraient pas de générer un rendement de plus 81,44 mM.



**Figure 3.9 Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-02**

La figure 3.10 présente les interactions possibles entre les différents paramètres utilisés dans le nouveau design. La ligne bleue représente le niveau élevé des paramètres identifiés à l'extrême droite et la ligne rouge le niveau bas. Tout comme dans le profil d'interaction du design premier, le croisement des droites (remarqué ou prévisible) impliquant le charbon en fonction des trois autres paramètres, démontre son interaction avec ces derniers. L'élément intéressant ici se situe surtout sur l'interaction entre le charbon et l'acide sulfurique qui contrairement à ce qui était retrouvé dans le premier design démontre une augmentation potentielle de rendement lorsque le charbon et l'acide sont à leur niveau le plus bas.



**Figure 3.10 Profil d'interaction des paramètres à optimiser DE-02**

L'utilisation d'une quantité de charbon inférieure à celle du premier essai n'a pas amené une grande variation sur la concentration en sucres. La concentration maximale obtenue après hydrolyse enzymatique est de 106,24 mM comparés à celle obtenue dans le premier design qui était de 115,37 mM. En comparant les échantillons sans charbon, soit les échantillons 1,2 et 7 du DE-02 par rapport à ceux du DE-01 on peut constater que, pour de mêmes conditions de réaction, les valeurs obtenues au DE-02 sont inférieures. On peut en conclure que les conditions du DE-02 ont permis d'obtenir des résultats semblables en utilisant moins de charbon.

### 3.4DE-03 Paramètres optimisés

#### 3.4.1 Rendements des prétraitements de DE-03

En tenant compte des résultats du DE-02, dans ce nouveau design, la quantité de charbon, la quantité d'acide sulfurique, la température et le temps de traitement ont été diminués. Nous avons remarqué effectivement que la diminution de ces paramètres augmente la concentration en sucre. Le tableau 3.4 présente le plan d'expérience et les résultats du nouveau modèle.

**Tableau 3.4 DE-03 Plan d'expérimentation sur mesure et résultats d'hydrolyse**

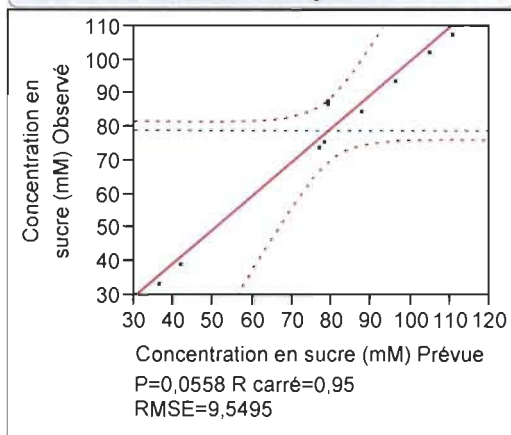
	Charbon (g)	Acide sulfurique 1M (g)	Température °C	Durée (min)	Concentration sucres (mM) après 24h
1	0	25	130	20	93,24
2	0,5	25	110	20	84,50
3	0	25	110	15	101,73
4	0	0	110	20	33,27
5	0	0	130	15	75,14
6	0,25	12,5	120	17,5	86,65
7	0,5	25	130	15	107,53
8	0,5	0	110	15	73,96
9	0,25	12,5	120	17,5	87,56
10	0,25	12,5	120	17,5	87,44
11	0,5	0	130	20	38,86

#### 3.4.2 Analyse de l'influence des paramètres sur la concentration en sucres réducteurs

La figure 3.11 représente le modèle de prédiction de la concentration en sucres proposé par le logiciel JMP.

### Réponse Concentration en sucre (mM)

#### Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues



#### Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	7	5235,9083	747,987	8,2022
Résidus	3	273,5798	91,193	Prob. > F
Total	10	5509,4881		0,0558

#### Estimations des coefficients

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	79,080091	2,879288	27,47	0,0001*
Charbon (g)(0,0,5)	0,182375	3,376264	0,05	0,9603
Acide sulfurique (g)(0,25)	20,721875	3,376264	6,14	0,0087*
Temperature C(110,130)	2,663625	3,376264	0,79	0,4878
Temps(h)(15,20)	-13,56113	3,376264	-4,02	0,0277*
Charbon (g)*Acide sulfurique (g)	-0,919625	3,376264	-0,27	0,8030
Charbon (g)*Temperature C	-5,680875	3,376264	-1,68	0,1910
Charbon (g)*Temps(h)	-0,970625	3,376264	-0,29	0,7925
Acide sulfurique (g)*Temperature C	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps(h)	0	0	.	.
Temperature C*Temps(h)	0	0	.	.

#### Estimations des coefficients triés

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Acide sulfurique (g)(0,25)	20,721875	3,376264	6,14	0,0087*
Temps(h)(15,20)	-13,56113	3,376264	-4,02	0,0277*
Charbon (g)*Temperature C	-5,680875	3,376264	-1,68	0,1910
Temperature C(110,130)	2,663625	3,376264	0,79	0,4878
Charbon (g)*Temps(h)	-0,970625	3,376264	-0,29	0,7925
Charbon (g)*Acide sulfurique (g)	-0,919625	3,376264	-0,27	0,8030
Charbon (g)(0,0,5)	0,182375	3,376264	0,05	0,9603
Acide sulfurique (g)*Temperature C	0	0	.	.
Acide sulfurique (g)*Temps(h)	0	0	.	.
Temperature C*Temps(h)	0	0	.	.

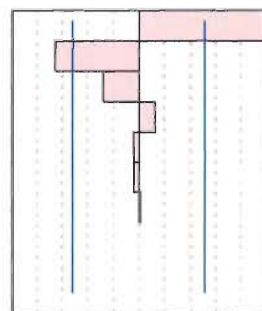


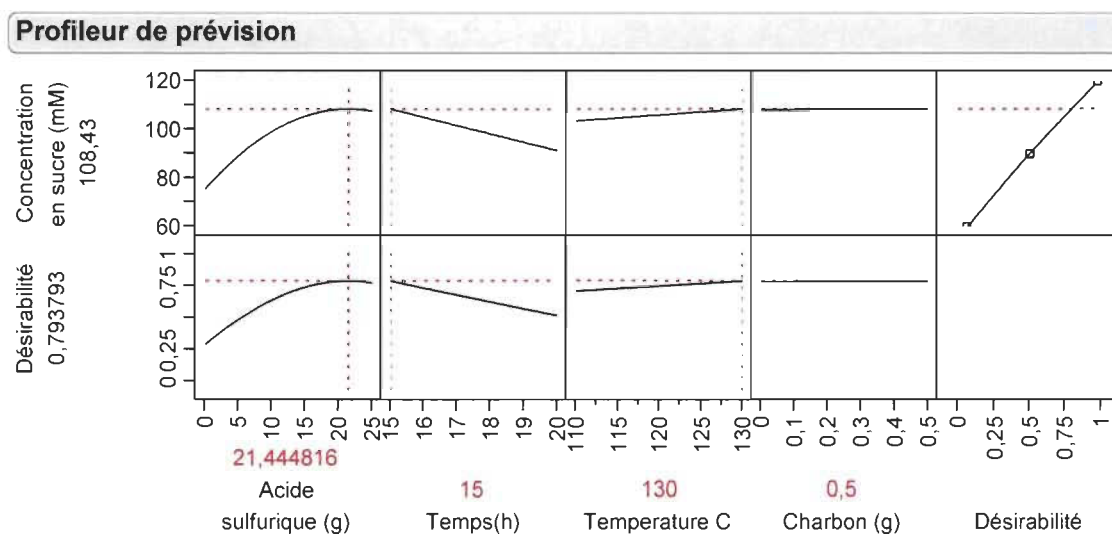
Figure 3.11 Modèle de prédiction de rendement DE-03



La régression linéaire entre la réponse observée et celle prévue présente un  $R^2$  0,95 ce qui donne un bon ajustement avec un écart type de 9,5. L'analyse du coefficient prob>t nous révèle que le charbon dans les limites étudiées dans ce troisième design, n'a pas une influence significative sur le rendement (prob>t de 0,9603), c'est le même cas pour le facteur température et les autres interactions. Les paramètres acide sulfurique et temps ont des valeurs plus significatives dans la plage étudiée avec ce nouveau design. En comparant avec la première et la deuxième analyse, la diminution de la quantité de charbon n'a pas vraiment influencé le procédé.

Les facteurs acide et temps ont une influence significative sur le procédé et l'on obtient une concentration élevée en sucres lorsque le facteur acide sulfurique passe du niveau bas au niveau haut et que le temps est au niveau le plus court. Dans le cas de l'acide sulfurique, nous obtenons une valeur optimale de 21,44 g.

La figure 3.12 représente le profil de prévision déterminé par le système du logiciel JMP, pour le troisième design.



**Figure 3.12 Effet des paramètres sur la concentration en sucres DE-03**

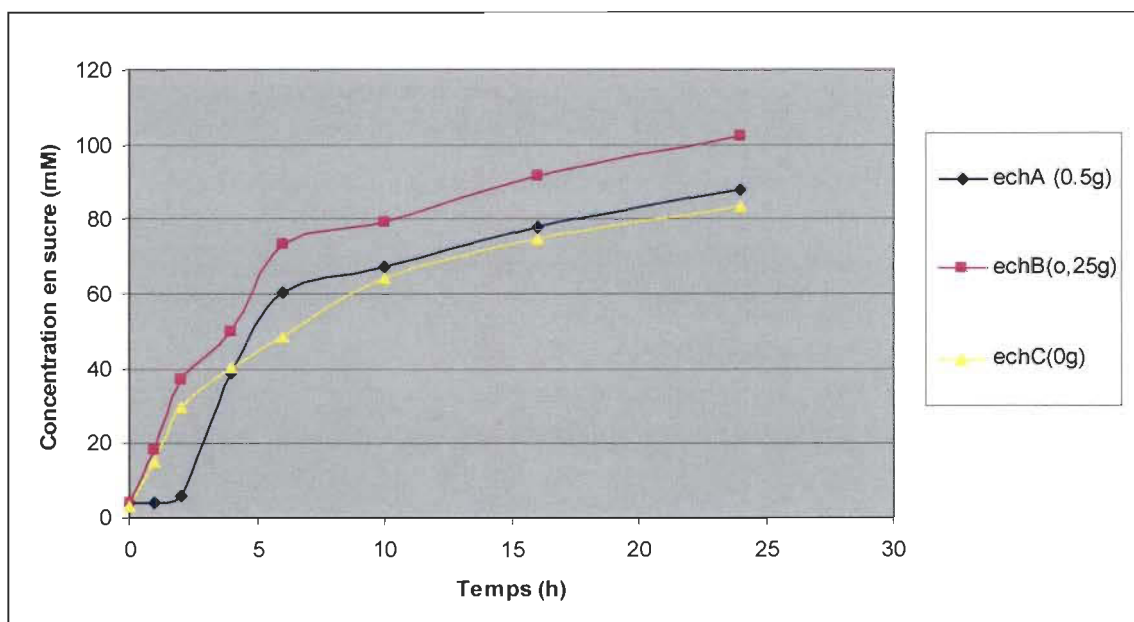
La figure 3.12 révèle, comme pour les deux autres designs, un effet positif de l'acide sur la concentration en sucres. Concernant le charbon, la température elle aussi a peu d'effet sur le procédé. En ce qui concerne la température, les valeurs choisies étaient moins élevées que pour les autres DE, on peut en conclure que l'optimum se situe à des



températures un peu plus élevées, mais qui ne dépassent pas 150 °C. Cette température plus basse réduit la formation de produits de dégradation. Pour ce qui est du facteur temps, plus le temps de séjour est court, plus la concentration en sucres augmente. Le charbon n'a pas présenté une grande influence sur le procédé même après la variation de la température et de la quantité d'acide. Cela peut nous amener à conclure que le charbon n'a pas un grand effet sur le procédé d'hydrolyse, lorsqu'additionné au prétraitement.

Basé sur les résultats des trois designs, nous pouvons établir les conditions optimales. La quantité d'acide sulfurique est le paramètre qui est toujours influent dans les trois designs. Nous obtenons un optimum lorsque l'on ajoute 21,44 g d'acide sulfurique 1M, une température entre 110 et 130 °C puisque, selon le DE-02, une température supérieure à 130°C nuit au procédé. Le charbon n'a pas un effet catalytique lors du prétraitement. Un temps maximal de 15 min est suffisant.

La figure 3.13 présente le rendement de l'hydrolyse enzymatique sur des échantillons de pâte Kraft en présence de différentes concentrations de charbon sulfoné.



**Figure 3.13** Résultats d'hydrolyse des échantillons de pâte Kraft en présence de charbon (0 à 0,5g)

Le charbon sulfoné a un impact catalytique sur l'hydrolyse enzymatique puisqu'il permet d'accélérer la réaction en plus de permettre d'atteindre une concentration finale en sucre réducteur plus élevée. La quantité optimale se situe à 0,25 g de charbon.

## Chapitre 4 - Conclusions

Les expériences effectuées lors de ce projet de recherche montrent, à travers le dosage des sucres par colorimétrie (test de PAHBAH), comment la concentration en sucres varie en fonction de la présence de charbon activé sulfoné, de la quantité d'acide sulfurique, d'un traitement aux micro-ondes à différentes températures et durées.

Le design expérimental a été utilisé pour faciliter l'étude des nombreux paramètres et combinaisons. Les expériences relatives à trois designs ont été effectuées au cours de ce projet. Le logiciel JMP a été utilisé pour le design et l'analyse des résultats.

Le premier design utilisé a servi à l'optimisation des paramètres de prétraitement en montrant l'effet de chaque paramètre et son influence sur le procédé. Certains échantillons ont atteint des concentrations en sucres importantes soit plus de 88 % de la valeur maximum théorique estimée. Cela peut être expliqué, par la facilité d'accès de l'enzyme aux liaisons glucosidiques à hydrolyser et par la perte minimale de glucose par dégradation ou modification suite à son exposition aux conditions des différents prétraitements.

L'analyse des résultats des trois designs par JMP a démontré l'influence de la présence du charbon sur la concentration en sucre. Plus on diminue la quantité de charbon, plus la concentration augmente. Il est donc néfaste d'utiliser une quantité trop importante de charbon à l'étape de prétraitement.

Par la suite, nous avons étudié l'effet de la présence du charbon sur l'hydrolyse enzymatique sans prétraitement. Le charbon sulfoné a un impact catalytique sur l'hydrolyse enzymatique puisqu'il permet d'accélérer la réaction en plus de permettre d'atteindre une concentration finale en sucres réducteurs plus élevée.

À partir des conclusions du DE-01, nous avons effectué un deuxième design où nous avons réduit la quantité de charbon de moitié, et gardé les autres paramètres tels que dans le premier design.

Les résultats obtenus démontrent que la température a un effet important sur la concentration en sucre. Des conditions de températures élevées diminuent la concentration en sucres réducteurs. Cela peut être expliqué par le fait que les hautes températures (plus de 150 °C) peuvent engendrer des produits de dégradation. Il a également été remarqué qu'un long temps de séjour diminue la concentration en sucres, donc la température et le temps ont une grande importance dans le procédé d'hydrolyse et sur la dégradation des sucres.

Suite à l'analyse du deuxième design, la température, le temps, la quantité de charbon et celle de l'acide sulfurique ont été diminués. Les résultats obtenus montrent une différence significative au niveau des concentrations en sucres. Le troisième design a confirmé qu'il est préférable de travailler à des températures inférieures à 150 °C et à un temps inférieur à 30 minutes. La diminution de la quantité d'acide sulfurique nous a permis de travailler dans des conditions chimiques plus douces et d'obtenir des résultats très intéressants.

Basés sur les résultats des trois designs, nous pouvons établir les conditions optimales. La quantité d'acide sulfurique est le paramètre qui est toujours influent dans les trois designs. Nous obtenons un optimum lorsque l'on ajoute 21,44 g d'acide sulfurique 1M, une température entre 110 et 130 °C puisque, selon le DE-02, une température supérieure à 130°C nuit au procédé. Le charbon n'a pas un effet catalytique lors du prétraitement. Un temps maximal de 15 min est suffisant.

En comparant les deux catalyseurs utilisés pour le traitement aux micro-ondes, l'acide sulfurique 1M a permis d'obtenir une hydrolyse plus rapide et efficace que le charbon. Il semble qu'un catalyseur liquide permet un meilleur contact avec la fibre solide qu'un catalyseur solide. Le prétraitement permet de faire relâcher la structure de la cellulose et la rend plus accessible à la digestion enzymatique qui elle libère des sucres réducteurs monomériques.

Des travaux futurs consisteraient à effectuer d'abord un prétraitement à l'acide sulfurique et par la suite ajouter le charbon sulfoné lors de l'hydrolyse enzymatique. Il

serait également intéressant d'étudier ces types de traitements sur la pâte mécanique contenant de l'hémicellulose et de la lignine.

## Bibliographie

- [1] Les papetières du Québec «Bilan annuel de conformité environnementale secteur des pâtes et papiers», (2001).
- [2] <http://www.polymtl.ca/pate-papier/bio/index.php>. Bio raffinage. «La bioraffinerie forestières dans l'industrie papetières».
- [3] Albert-Thenet, J.R., Simpson, C.O., Rao, P.S et Martin Gardner, M. 2004. «The BAMC fuel cane project». West Indies Sugar Technologist (WIST), National Agricultural Research Conference.
- [4] Ayhan, D. 2001. «Biomass resource facilities and biomass conversion processing for fuels and chemicals». Energy Conversion and Management. 42(11): 1357-1378.
- [5] Bolye, G. 1996. «Renewable energy Power for a sustainable Future». Ed. Oxford University Press, Oxford, UK.
- [6] Lee J. 1997. «Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol». Journal of Biotechnology. 56 :1-24.
- [7] Yu, Y., Lou, X et Wu, H. 2007. «Some Recent Advances in Hydrolysis of Biomass in Hot-Compressed Water and Its Comparisons with Other Hydrolysis Methods†». Energy & Fuels. 22(1): 46-60.
- [8] Chu, S. S. C et Jeffrey, G. A. 1968. «The refinement of the crystal structures of [beta]-d-glucose and cellobiose». Acta Crystallographica Section B. 24(6): 830-838.
- [9] Atalla, R. H., Whitmore, R. E et Vanderhart, D. L. 1985. «A highly crystalline cellulose from *Rhizoclonium hieroglyphicum*». Biopolymers. 24(2): 421-423.

- [10] Horii, F., Yamamoto, H., Kitamaru, R., Tanahashi, M et Higuchi, T. 1987. «Transformation of native cellulose crystals induced by saturated steam at high temperatures». *Macromolecules*. 20(11): 2946-2949.
- [11] Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederick, W.J., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templer, R et Tschaplinski, T. 2006. «The path forward for biofuels and biomaterials». *Science*. 311: 484-489.
- [12] Hahn-Hägerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Grauslund, M. F., Lidén, G., and Zacchi, G. 2006. «Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today». *Trends in Biotechnology*. 24(12): 549-556.
- [13] Rioux, P.2009. « PNA-1009 Fabrication des pâtes». UQTR
- [14] Fukuoka, A.; Dhepe, P. L.2006. «Catalytic conversion of cellulose into sugar alcohols». *Angew. Chem., Int.* 45: 5161– 5163.
- [15] Sherrard, E. C.; Kressman, F. W.1945. «Review of processes in the United. States prior to World War II». *Ind. Eng. Chem.* 37: 5–8.
- [16] Harris, E. E et Beglinger, E. 1946. «Madison wood sugar process». *Ind. Eng. Chem.* 38: 890-895.
- [17] Zhang, Y-HP et Lynd, LR. 2004. «Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems». *Biotechnol Bioeng.* 88:797–824.
- [18] Sasaki, M., Fang, Z., Fukushima, Y, Adschiri, T et Arai, K. 2000. «Dissolution and hydrolysis of cellulose in subcritical water». *Ind. Eng. Chem. Res.* 39 (8) : 2883–2890.
- [19] Balleri Daniel, avec la collaboration de Alzard-toux Nathalie. 2006. «Etat des lieux, perspectives et enjeux du développement».

- [20] Jacquet, N., Vanderghem C., Blecker, C. et Paquot M. 2010. «La steam explosion : application en tant que prétraitement de la matière lignocellulosique». *Biotechnologie, Agronomie, Société et environnement*. vol 14: 561-566.
- [21] [http://fr.wikipedia.org/wiki/Four\\_%C3%A0\\_micro-ondes](http://fr.wikipedia.org/wiki/Four_%C3%A0_micro-ondes), « Four à micro-ondes ».
- [22] Zhua, S., Wua, Y., Yub, Z., Liaoa, J., Yan, Liaoa et Zhanga Y. 2005. «Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis». *Process biochemistry*. 40: 3082-3086 .
- [23] Ooshima, H., Aso, K., Harano, Y et Yamamoto, T. 1984. «Microwave treatment of cellulosic materials for their enzymatic hydrolysis », *Biotechnology letters* vol 6:289-294 .
- [24] Deguchi, S., Tsujii, K et Horikoshi, K. 2008. «Effect of acid catalyst on structural transformation and hydrolysis of cellulose in hydrothermal conditions». *Green Chemistry*. 10(6): 623-626.
- [25] Suganuma, S., Nakajima, K., Kitano, M., Yamaguchi, D., Kato, H., Hayashi, S et Hara, M. 2008. «Hydrolysis of Cellulose by Amorphous Carbon Bearing SO<sub>3</sub>H, COOH, and OH Groups». *Journal of the American Chemical Society*. 130(38): 12787-12793
- [26] Pulping and Bleaching PSE 476/Chem E 471, Lecture #10 Kraft Pulping  
Carbohydrate Reactions.
- [27] Daneault, C CHM-6001 . 2008. «chimie du bois et des dérivés cellulosiques». UQTR.
- [28] Onda, A., Ochi, T., and Yanagisawa, K. (2008). "Selective hydrolysis of cellulose into glucose over solid acid catalysts." *Green Chemistry*, 10(10), 1033-1037.
- [29] Hara, M., Yoshida, T., Takagaki, A., Takata, T., Kondo, J. N., Hayashi, S et Domen, K. 2004. «A Carbon Material as a Strong Protonic Acid». *Angewandte Chemie International Edition*. 43(22) : 2955-2958.



- [30] Toda, M., Takagaki, A., Okamura, M., Kondo, J.N., Hayashi, S., Domen, K et Hara, M. 2005. «Biodiesel made with sugar catalyst». *Nature*. 438: 178-178.
- [31] Xavier, N. M., Lucas, S.D et Rauter, A. P. 2009. «Zeolites as efficient catalysts for key transformations in carbohydrate chemistry». *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 305(1-2):84-89.
- [32] Pettersson, G. (1975).« The mechanism of enzymatic hydrolysis of cellulose by *Trichoderma viride*». *Proceedings SITRA Symposium on Enzymatic hydrolysis of cellulose*, 255-261. Aulanko, Finland.
- [33] <http://www.usinenouvelle.com/expo/multiwave-digesteur-p12226.html> Annexes. «multiwave-digesteur».
- [34] Lever, M., Trevor, A., Walmsley, Robert, S., Visser, Sandra, J et Ryde . 1984 .«Optimal conditions for 4-hydroxybenzoyl-and 2-furoylhydrazine as reagents for the determination of carbohydrates, including ketosamines». *Analytical Biochemistry*. volume 139 (1) :205-211.
- [35] Brörjesson, J., Peterson, R et Tjerneld, F. 2007. «Enhanced enzymatic conversion of softwood lignocellulose by poly (ethylene glycol) addition», 40:754-762 .
- [36] Gagnon, M., Debboub, A., Montplaisir, D., 2011. « Enzymatic hydrolysis of paper mill primary sludge as a potential source of simple sugars for lignocellulosic biorefinery », *Environmental Science : An Indian Journal*, TSI, Vol. 6 (3).
- [37] <http://www.meadwestvaco.com/SpecialtyChemicals/ActivatedCarbon> .« Granular Activated Carbon».
- [38] Dashtban, M., Maki, M., Leung, K. T., Mao, C., and Qin, W. 2010. «Cellulase activities in biomass conversion: measurement methods and comparison». *Critical Reviews in Biotechnology*. 30(4): 302-309.
- [39] Sall, J., Creighton, L et Lehman, A. 2008. «JMP Start Statistics». *A guide to statistics and data analysis using JMP fourth edition*.

## Annexe

**Tableau 1 : Compositions de la biomasse lignocellulosique (% base sèche)**

lignocellulosic material	cellulose	hemicellulose	lignin	ash
<b>Hard Woods</b>				
white poplar	49.0	25.6	23.1	0.2
European birch	48.5	25.1	19.4	0.3
white willow	49.6	26.7	22.7	0.3
<b>Soft Woods</b>				
white spruce	44.8	30.9	27.1	0.3
Monterey pine	41.7	20.5	25.9	0.3
Douglas fir	42.0	23.5	27.8	0.4
<b>Agricultural Residues</b>				
corn stover	37.1	24.2	18.2	5.2
sugarcane bagasse	39.0	24.9	23.1	3.7
wheat straw	44.5	24.3	21.3	3.1
<b>Other Wastes</b>				
newspaper	40–55	25–40	18–30	NA
waste papers from chemical pulps	60–70	10–20	5–10	NA
sorted refuse	60	20	20	NA

Données récupérées après analyse par le PAHABA des tableaux 2.3 et 3.1

<b>A</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,44	18,79	31,01	39,95	59,29	66,34	73,44	87,30
<b>B</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,48	23,63	39,14	53,53	70,39	80,34	95,81	100,03
<b>C</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,44	16,59	24,17	33,71	49,43	63,44	72,28	82,93
<b>1</b>								

temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,11	10,21	16,98	29,44	46,11	58,22	69,78	78,74
<b>2</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,79	14,41	24,26	38,28	50,99	63,33	74,85	83,85
<b>3</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,75	17,00	25,56	38,01	51,40	59,33	75,02	83,69
<b>4</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,07	14,34	25,34	54,88	69,43	78,11	99,87	115,37
<b>5</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,04	8,50	36,17	45,83	52,04	80,11	97,94	105,98
<b>6</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,16	14,56	23,51	36,44	54,19	66,77	78,62	83,59
<b>7</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,16	14,56	24,11	38,28	56,29	61,22	73,56	75,66
<b>8</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,17	10,65	17,86	24,21	39,78	44,32	52,35	59,59
<b>9</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,37	9,62	16,16	22,33	29,18	34,22	49,56	55,59
<b>10</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	1,93	13,41	29,01	35,07	54,51	79,33	92,56	102,86
<b>11</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,96	3,00	5,22	12,94	14,55	16,33	21,32	25,23

Données récupérées du tableau 2.3 et 3.4

<b>A</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,02	14,34	29,11	40,35	56,11	69,23	79,54	87,86
<b>B</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,07	21,79	35,11	49,93	69,67	88,21	92,715	105,88
<b>C</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,64	13,27	19,01	34,14	47,55	65,32	74,11	83,74
<b>1</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,16	11,29	19,86	26,14	42,61	50,23	77,74	80,42
<b>2</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,59	10,25	14,16	23,34	38,91	47,13	74,73	79,42
<b>3</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,855	16,403	23,35	35,01	55,433	60,11	75,022	78,93
<b>4</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,00	5,77	25,73	32,09	38,39	42,33	50,80	56,80
<b>5</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,07	5,50	26,28	34,83	72,04	88,33	98,94	106,24
<b>6</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,58	13,76	24,11	35,28	56,29	63,33	73,56	85,60
<b>7</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	1,10	6,40	11,46	18,43	24,23	35,33	42,11	79,29

<b>8</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,87	6,67	8,86	14,21	19,78	35,32	55,15	59,89
<b>9</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,87	6,67	7,86	21,21	29,78	35,00	52,36	79,78
<b>10</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	1,63	13,41	19,01	34,07	50,51	75,65	89,86	92,56
<b>11</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,16	4,11	7,11	11,97	13,55	15,33	16,32	33,11

Données tableau 2.3 et 3.?

<b>A</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,07	4,20	6,17	38,74	60,29	67,34	77,85	87,80
<b>B</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,01	18,33	37,21	49,83	73,11	79,33	91,77	101,99
<b>C</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,00	15,21	29,76	40,14	48,33	64,33	74,48	83,30
<b>1</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,86	14,28	22,96	31,65	43,32	69,87	88,55	93,24
<b>2</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,731	10,31	18,38	21,96	41,41	69,32	81,08	84,50

<b>3</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,64	6,40	21,25	49,35	61,15	83,23	93,06	101,73
<b>4</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,07	5,43	9,43	12,21	15,43	19,87	21,45	33,27
<b>5</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,87	14,45	16,96	33,32	45,04	51,98	69,43	75,14
<b>6</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,86	18,16	25,44	34,11	46,29	64,76	77,43	86,64
<b>7</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,09	18,64	28,91	44,52	53,19	66,43	82,31	107,53
<b>8</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	4,17	10,57	17,88	24,29	39,78	44,43	59,95	73,96
<b>9</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,86	16,55	27,33	34,43	49,45	60,33	79,44	87,56
<b>10</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	3,93	19,51	29,15	31,086	56,33	68,34	76,79	87,44
<b>11</b>								
temps	0	1	2	4	6	10	16	24
Conc mM	2,00	6,43	10,90	14,33	19,01	25,43	30,47	38,96